

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

**Etude d'une variété d'Infection intestinale
CHEZ LE NOURRISSON**

PAR M. HENRY TISSIER

L'étiologie des gastro-entérites du nourrisson est encore, à l'heure actuelle, bien peu connue. C'est ce qui explique la multiplicité des traitements employés et leur inefficacité plus ou moins grande, la plupart ayant été établis sans méthode ou sans but déterminé. Il semble pourtant qu'une étude complète de la cause déterminante pourrait aider à résoudre cet important problème.

Lors du congrès de médecine¹ tenu à Paris, en 1900, beaucoup de rapports ont été lus, concernant la pathogénie des gastro-entérites. Ils se terminaient généralement par des conclusions différentes. Le professeur Escherich, à qui revient l'honneur d'avoir, le premier, bien étudié, dès 1885, la Flore intestinale du nourrisson, reconnaissait à ces maladies trois grandes causes : 1^o une intoxication ectogène; 2^o une infection du contenu du tube digestif (Chymus-infection); 3^o une infection intestinale vraie. Baginsky, reprenant les anciennes idées d'infection et d'intoxication endogène ou ectogène, n'admettait pas, dans les diarrhées d'été, l'existence de microbes spécifiques, mais de saprophytes quelconques. Marfan ne donnait aucune classification étiologique. Il est donc facile de voir, d'après ces divergences d'opinion, que la question était loin d'être résolue.

1. *Comptes rendus du XIII^e congrès international de médecine.* — Section des maladies de l'enfance. P. 444 et suivantes.

Nous avons cherché, dans notre travail de 1900¹, à donner quelques aperçus sur la Flore pathologique, uniquement pour montrer les différences qui la séparent de la Flore normale. Nous avons vu qu'il n'était possible d'admettre jusqu'ici que deux grandes variétés de gastro-entérites : 1^o les *infections intestinales*, indiquées par la pullulation, dans les selles, d'espèces anormales ; et 2^o les *intoxications* dues à l'introduction dans le tube digestif de poisons minéraux ou organiques. Nous avons laissé de côté, jusqu'à nouvel ordre, ces infections dites « endogènes » qui ne seraient causées que par l'exaltation de virulence des saprophytes normaux, sous l'influence des changements brusques de température.

Maintenant, nous devons étudier de plus près ces *infections intestinales* et chercher s'il est possible d'établir, dans ce grand groupe de maladies du nourrisson, des types cliniques et bactériologiques distincts. Jusqu'ici la clinique seule s'est montrée impuissante à le faire et il est bien certain que, pour arriver à ce résultat, il est nécessaire de compléter l'observation clinique par des recherches bactériologiques précises.

Nous avons tenté d'entreprendre ce travail et parmi les cas que nous avons pu étudier jusqu'ici, nous en avons trouvé un certain nombre dont les symptômes, la marche et surtout l'aspect bactériologique des selles nous ont paru appartenir à un même type et former une variété à part dans la classe des *infections intestinales*.

Nous allons en donner une description succincte.

Cette variété de troubles digestifs peut se présenter dans toutes les saisons, chez tous les nourrissons, quels que soient leur âge et leur mode d'alimentation.

Mais il est bien certain que, si de l'ensemble des cas on peut établir un type général, le mode d'alimentation, l'âge de l'enfant influeront sur la marche et la gravité de la maladie. Le nourrisson au biberon, par exemple, ne résistera pas comme l'enfant au sein et un nourrisson de quelques jours comme un autre plus âgé, ce qui nous conduit à décrire des formes un peu différentes les unes des autres.

Prenons donc, comme type de notre description, les troubles

1. H. TISSIER. *Recherches sur la Flore intestinale normale et pathologique du nourrisson.* — Thèse de Paris, 1900, librairie Maloine.

causés par cette maladie chez un nourrisson au sein, de 2 à 3 mois.

SYMPTOMES. — La PÉRIODE DE DÉBUT est en général assez courte, sa durée oscille entre 2 et 6 jours en moyenne. On voit tout d'abord, chez un enfant jusque-là bien portant, et dont les selles ont la consistance normale et la couleur jaune d'or caractéristique, survenir petit à petit des matières plus dures, d'une coloration plus foncée et d'une odeur légèrement fétide. Un à 2 jours après, les selles sont formées d'un liquide jaune verdâtre tenant en suspension des matières ovillées, consistantes, et sont accompagnées d'une émission de gaz plus abondante que de coutume. On n'en compte encore pas plus de deux dans les 24 heures. Mais dès le lendemain leur nombre augmente, atteint 3 à 4 dans le même laps de temps. Elles sont alors nettement liquides.

L'état général n'est pas encore sensiblement modifié. L'enfant est cependant moins gai, il pleure fréquemment, son appétit est moindre, il ne prend pas aussi bien le sein ou s'endort au milieu des tétées. Pendant toute la durée de cette période, le poids reste stationnaire ou n'augmente que d'une façon insignifiante.

PÉRIODE D'ÉTAT. — Les troubles que nous venons de signaler ne tardent pas à s'aggraver. Au lieu des 3 ou 4 selles, notées jusqu'alors, on peut en compter, suivant les cas, 6, 8 et même 12 dans les 24 heures. Elles ont un aspect caractéristique. Elles sont formées d'un liquide louche jaune brunâtre, tenant en suspension de fins grumeaux gris verdâtres. Elles sont accompagnées d'une émission abondante de gaz qui les rend spumeuses et les fait ressembler à de la *mousse de bière*. Abandonnées à l'air sur les langes, elles changent rapidement de couleur et prennent un ton *vert olive*. Leur abondance est très variable. En général, on ne constate guère plus de 2 à 4 selles abondantes, les autres ne sont formées que d'une petite quantité de liquide laissant sur les couches des taches vert foncé du diamètre d'une pièce de cinq francs ou de deux francs et, quand on change l'enfant, il est rare qu'on ne trouve pas une de ces taches. Il semble aussi que l'émission de ces selles soit accompagnée de coliques, car à ce moment l'enfant pousse des cris et pleure.

L'appétit est, en général, mauvais. Le nourrisson s'alimente

mal, tantôt il semble vouloir prendre le sein avec avidité, boit quelques gorgées de lait et s'arrête pour pleurer, tantôt il le prend difficilement, puis s'endort, tantôt enfin il refuse toute alimentation. Souvent il a des régurgitations après les tétées ou des vomissements une 1/2 heure, 1 heure, 2 heures après. La langue est quelquefois recouverte d'un léger enduit humide et blanchâtre.

On peut voir apparaître de l'érythème fessier, même chez des enfants les mieux tenus. Il n'est pas rare, aussi, de voir survenir, sur le front d'abord, une éruption formée de fines vésicules blanches, reposant sur une base érythémateuse, qui ne tarde pas à envahir toute la face et à s'étendre parfois à la poitrine, au dos, à l'abdomen.

Les urines sont rouge foncé et forment sur les couches des taches rougeâtres.

- L'état général se modifie. L'enfant est pâle, amaigri. Il a des crises d'agitation, crie et pleure sans motif apparent, se réveille fréquemment au milieu de la nuit.

Dans l'intervalle il est abattu. Le poids baisse rapidement. Les premiers jours, quand la diarrhée est établie, la perte de poids peut atteindre 100 grammes, 200 grammes les deux premiers jours, et les jours suivants ne pas dépasser 40 à 50 grammes. Puis, si le médecin ne prescrit aucun traitement comme la diète hydrique ou le calomel, le poids remonte lentement de 5 à 10 grammes, pendant un ou deux jours, pour rebaisser ensuite de quelques grammes.

Cette courbe oscillante est pourtant dans son ensemble légèrement ascendante.

Dans un cas, le nourrisson en 15 jours avait récupéré 40 grammes, dans un autre, en 20 jours, 90 grammes. Pendant toute cette période, cependant, le poids est toujours au-dessous de celui du début de la maladie. La perte totale peut même être de 100 à 200 grammes.

Ce mauvais état général, cette inappétence, ces selles fréquentes et mousseuses persistent sans modification appréciable pendant 15, 18 ou 20 jours.

PÉRIODE TERMINALE. — Peu à peu tous ces troubles vont s'amender.

Les selles deviennent moins fréquentes, elles sont encore

liquides, forment toujours sur les couches des taches vertes, mais elles sont de moins en moins mousseuses, elles deviennent glaireuses, muqueuses. De temps à autre on voit encore apparaître une de ces selles mousseuses, dans la soirée par exemple, mais elles sont de plus en plus rares. Enfin, on ne compte plus que 1 à 2 selles dans les 24 heures, elles ne sont plus liquides et ne deviennent plus vertes par exposition à l'air.

L'appétit est meilleur. L'enfant prend mieux le sein. Le poids des tétées suit une courbe ascendante. Les régurgitations sont moins fréquentes et les vomissements cessent.

L'état général s'améliore. L'enfant crie moins souvent. Le teint redevient rosé. L'éruption disparaît. Les urines ne forment plus de taches rougeâtres. Le poids remonte lentement de 10 à 20 grammes par jour pendant quelque temps, puis de 20 à 25 grammes. L'enfant récupère ainsi le poids qu'il avait au début de la maladie, mais au bout d'un temps plus ou moins long, 26 jours (obs. 1), 34 jours (obs. 3), 30 jours (obs. 2).

Il n'est pas rare de voir, au cours de cette période, se produire des petites poussées aiguës. Elles sont, d'ordinaire, annoncées par un peu d'inappétence.

Le poids des tétées diminue. L'enfant crie plus fréquemment, puis 1 ou 2 jours après surviennent quelques selles plus liquides, plus verdâtres, plus mousseuses. En général, ces rechutes durent peu et, en 2 ou 3 jours, tous ces troubles ont disparu.

Cette période de déclin est toujours longue, sa durée varie entre 15 jours et 1 mois. Enfin, brusquement apparaissent les selles jaune d'or, si caractéristiques des enfants normaux au sein, qui indiquent la guérison certaine de la maladie.

MARCHE. — Ainsi, comme nous venons de le voir, la durée totale de cette affection est très longue, elle est de 1 à 2 mois. Dans les derniers jours de la période terminale, tout semble être rentré dans l'ordre : les troubles digestifs paraissent avoir définitivement disparu, le poids augmente, il est même supérieur à celui du début de la maladie, et cependant l'examen attentif des selles nous montre qu'il ne s'agit que d'une amélioration passagère, que la guérison n'est pas encore obtenue. Du reste, un écart de régime, une alimentation défectueuse fera immédiatement réapparaître tous les symptômes de la période

d'état. La maladie n'est véritablement terminée que le jour où apparaissent les selles normales. Nous verrons plus loin que les examens bactériologiques confirment cette manière de voir.

La convalescence est d'ordinaire assez courte. La courbe du poids monte rapidement et atteint en peu de jours la courbe normale.

Parfois, le nourrisson se rétablit moins vite. Les selles, rares, se produisant non plus quotidiennement, mais tous les 2, 3 et 4 jours.

Quant au pronostic, il n'est généralement pas grave et nous n'avons pas encore vu de cas mortels chez les enfants au sein. Il se produit évidemment un léger retard dans leur croissance mais au bout de quelques semaines il ne reste plus trace de cette affection.

FORMES.—A côté de cette forme relativement bénigne, nous devrons décrire celle qu'on rencontre d'habitude chez *l'enfant au biberon*.

Son début est bien plus brusque; en 2 ou 3 jours, les troubles digestifs atteignent leur maximum de gravité. Les selles deviennent rapidement très fréquentes, 10 à 12, quelquefois plus dans les 24 heures. Elles sont liquides, de coloration jaune verdâtre à l'émission, puis vert olive au contact de l'air, très mousseuses et légèrement fétides. L'inappétence est de règle; souvent même, le nourrisson refuse le lait et l'eau bouillie.

Le teint est pâle, l'amaigrissement rapide. Parfois on note de la fièvre : 38°, 38°, 5.

Le pronostic est toujours très grave. Dans un cas (obs. IV) nous avons vu la mort survenir au bout de huit jours.

Il existe encore une autre forme de la maladie que nous devons mentionner, c'est celle que l'on peut observer chez les *tout jeunes enfants* âgés de quelques jours à peine.

Dans la description qui va suivre, nous ne comprenons que les nourrissons au sein, car nous n'avons pas encore eu l'occasion d'observer cette maladie chez ceux qui ont été alimentés au lait de vache dès les premières heures de la vie.

Tout d'abord, dans les 3 premiers jours qui suivent la naissance, on ne constate, chez les nouveaux-nés, rien qui puisse faire prévoir les accidents qui vont suivre.

Quelques-uns pourtant présentent une légère teinte subiectérique des légumes, d'autres s'alimentent d'une façon défectueuse par suite de gerçures du mamelon, d'accidents consécutifs à l'accouchement, chez la mère. C'est ordinairement vers la fin du troisième jour, ou dans le courant du quatrième, qu'on commence à noter quelques anomalies.

On sait, en effet, que chez tous les enfants, le poids baisse dans les 2 ou 3 premiers jours, de 150 grammes à 300 grammes, puis, au moment où se produit dans l'intestin la *transformation de la Flore*, il remonte pour atteindre le poids primitif entre le quatrième ou le dixième jour, en moyenne. Or, dans les cas qui nous occupent, cette baisse se prolonge jusqu'au cinquième ou sixième jour; elle est de 400 à 600 grammes, le double de celle qui se produit d'habitude, et le poids ne remonte que très lentement et d'une façon irrégulière. En outre on ne voit pas ces selles jaunes d'or caractéristiques qui, d'ordinaire, apparaissent après le quatrième jour. Nous verrons plus loin qu'il ne se fait pas de transformation de la Flore intestinale.

Vers le septième ou huitième jour, les matières fécales ont encore un aspect rappelant celui du méconium; elles ont une coloration vert foncé, mais elles sont très liquides et peu abondantes. L'enfant prend mal le sein, s'endort au milieu de la tetée; il prend à peine 185 grammes de lait dans les 24 heures.

Le dixième ou douzième jour, les troubles digestifs sont alors très apparents. Les selles sont très fréquentes, très liquides, spumeuses, en *mousse de bière*, etc.

Puis la maladie évolue comme nous l'avons indiqué plus haut pour les enfants au sein de 2 à 3 mois.

Dans la période d'état, dont la durée est également d'une vingtaine de jours, la courbe du poids est plus ascendante, puisque ces malades peuvent augmenter de 10 grammes en moyenne par jour. Mais le poids initial n'est récupéré qu'au cours de la période de déclin, quand tous les troubles digestifs commencent à s'amender, c'est-à-dire 30, 40 jours après la naissance. Au moment de la guérison, annoncée par l'apparition plus ou moins brusque des selles normales, le poids peut même dépasser de 100 à 150 grammes le poids primitif.

La durée totale de la maladie, chez ces nouveau-nés, est également de 1 à 2 mois.

La convalescence est longue et, longtemps après, on note encore une susceptibilité particulière aux infections.

Le pronostic n'est pas plus grave que pour la forme qui a servi de type à notre description, mais il peut le devenir par suite d'un traitement irraisonné. Si l'on cherche à suppléer, par exemple, l'alimentation maternelle au moyen de lait de vache pur, stérilisé ou non, ou si on remplace le sein par le biberon, la maladie s'aggrave et peut devenir mortelle.

ÉTILOGIE. — Quelles sont maintenant les causes de cette variété de gastro-entérite ?

CAUSES DÉTERMINANTES. — Ce qui domine dans cette affection, ce sont, comme nous l'avons vu, les troubles digestifs; il est donc bien probable que l'étude approfondie des selles devra nous donner des renseignements importants.

Au point de vue *chimique*, elles ne présentent rien de spécial. Elles ont au début une réaction faiblement alcaline, qui, plus tard, quand la diarrhée sera établie, deviendra légèrement acide. Elles contiennent des grumeaux de caséine, des graisses, mais sont surtout formées de mucus, de sérosités mélangées d'une notable proportion de sels et de pigments biliaires. Les gaz qui les accompagnent sont, sauf au début, peu fétides.

Au point de vue *bactériologique*, par contre, les selles ont un caractère bien particulier.

En examinant, au microscope, une parcelle des matières fécales émises par un enfant au sein dans la période d'état, il est facile de voir que la Flore intestinale est tout à fait différente de la Flore normale.

Au lieu des diplobacilles à extrémités effilées, rangés les uns à côté des autres « en palissade » en nombre si considérable qu'ils semblent provenir d'une culture pure et des quelques coccobacilles et diplocoques disséminés dans les préparations, on trouve un aspect bactérien tout autre. Les coccobacilles et les diplocoques sont très nombreux, ils sont en nombre prédominant. Cette pullulation des anaérobies facultatifs normaux est une conséquence du changement d'état du milieu intestinal, elle existe dans toutes les diarrhées, qu'elles soient d'origine toxique ou d'origine infectieuse : c'est la *modification diarrhéique habituelle* de la Flore. Elle semble, dans ce cas, toujours très intense, car on ne trouve plus de formes rappelant celles du

Bac. bifidus. Mais, fait très important, à côté des bactéries que nous venons de signaler, il existe toujours en grand nombre des *espèces anormales* : gros bacilles à bouts carrés, bacilles trapus à extrémités arrondies, renflés vers leur milieu quand ils possèdent une spore et se colorant en bleu par l'iode, bacilles grèles, rigides ou incurvés, présentant une spore ronde à une de leurs extrémités, coccobacilles en forme de navette, très fins cocci réunis en amas. La coloration par la méthode de Gram a montré que seules les formes bacillaires et quelques cocci restent colorés.

Le simple examen microscopique indique que ces matières fécales ont tous les caractères de celles qui accompagnent les infections intestinales.

Si maintenant nous cherchons à isoler ces différents organismes, au moyen de la méthode de Veillon par exemple, nous trouvons à côté de nombreuses colonies de *Bact. coli* et d'*Entérocoque*, d'autres formées par le *Bac. perfringens*, le *Bac. saccharobyticus* de Klecki (variété acétique), le *Bac. III de Rodella*, le *Coccobacillus perfætens* (H. Tissier), le *Staphylococcus parvulus* (Veillon et Zuber). Les deux premières bactéries sont seules des anaérobies facultatifs ; les autres sont des anaérobies stricts.

Les caractères biologiques et chimiques des races d'*Entérocoques* isolées dans cette diarrhée ne sont pas différents de celles qui contribuent à former la Flore normale. Elles ne sont pas plus pathogènes et leur activité fermentative est la même. Quant au *Bact. coli*, nous avons rencontré surtout la variété *commune* d'Escherisch, ferment acide du glucose et du lactose, sans action sur le saccharose, plus rarement la variété *Bac. coli communior* de Durham, ferment acide du glucose, lactose et saccharose, et jamais la variété *typhimorphe* d'Hermann et Wurtz, ferment acide du glucose et du saccharose, sans action sur le lactose.

Le *Bac. perfringens* isolé avait, comme d'ordinaire, une action fermentative puissante. Son acidité d'arrêt oscillait entre 2.45 et 3.43 0/00 en SO_4H_2 . Il était toujours très pathogène.

Le bacille butyrique que nous avons signalé plus haut avait les caractères suivants : anaérobie strict, très mobile, donnant des spores dans tous les milieux, se colorant en bleu par l'iode,

gardant la coloration par la méthode de Gram, susceptible de végéter à 20° comme à 37° dans tous les milieux désaérés, ne liquéfiant pas la gélatine, n'attaquant pas l'albumine cuite ni la caséine, il poussait dans la gélose sucrée, en profondeur, sous forme de colonies marronnées, bosselées, mais jamais floconneuses, en donnant des gaz qui fragmentaient le milieu en 24 heures. Dans les milieux liquides, cette bactérie formait de petits grumeaux qui tombaient au fond du vase. Elle coagulait le lait, comme le *Bac. Perfringens*, en donnant des vacuoles au milieu de la caséine. Elle ne produisait pas d'indol, mais de l'ammoniaque, dans les milieux peptonisés, attaquant le glucose, le lactose et le saccharose en donnant des acides volatils : butyrique, acétique (dans la proportion de 1 partie d'acide butyrique pour 10 parties d'acide acétique). Cette action était limitée par une acidité d'arrêt de 2.45 à 3.43 0/00 en SO_4H_2 . Elle ne donnait jamais d'alcool et n'était pas pathogène, en inoculation sous-cutanée, pour les animaux de laboratoire. Nous avons pensé que nous étions en présence d'une race spéciale du *Bac. saccharobutyricus* (Klecki) que nous proposons d'appeler variété acétique. Elle est bien différente du *Bac. lactopropylbutyricus* (H. Tissier et P. Gasching). Le *Bac. III de Rodella* avait les mêmes propriétés que les échantillons isolés du méconium. Le *coccobacillus perfætens*, ferment peptolytique mixte, comme la bactérie précédente, ne présentait également aucune particularité. Nous avons trouvé la variété n° 1 qui n'attaque pas le lactose et la variété n° 2 ou lactique qui l'attaque. Le petit coccus, décoloré par la méthode de Gram, que nous avons identifié au *staphylococcus parvulus* (Veillon et Zuber), avait les propriétés chimiques suivantes : il attaquaient le glucose en donnant une acidité d'arrêt de 1.96 0/00 en SO_4H_2 , très faiblement le saccharose et nullement le lactose. Il n'avait aucune action sur les matières albuminoïdes qui n'avaient pas subi un commencement d'hydratation : albumine d'œufs, caséine, gélatine, mais dédoublait les protéoses en donnant de l'ammoniaque mais pas d'indol.

Ainsi, de toutes ces bactéries *anormales*, une seule est ferment protéolytique mixte, les autres ne sont que des ferment peptolytiques mixtes. Les selles qui les contiennent doivent donc, contrairement aux selles d'enfants au sein bien portants âgés de plus de 5 jours, avoir une certaine action sur les matières

albuminoïdes naturelles. Si, en effet, on ensemence avec une *parcelle* de ces matières un tube de bouillon ordinaire, contenant du blanc d'œuf et fermé à la lampe après y avoir fait le vide, on constate toujours une attaque plus ou moins rapide de l'albumine cuite. Si cet ensemencement est fait dans des tubes contenant de la viande, on voit d'abord une dissolution du sarcolemme, et ensuite une digestion de la fibre musculaire. Nous devons ajouter qu'à la fin de la période de déclin, cette dernière action ne se produit plus, mais on note pendant quelque temps encore la digestion du sarcolemme.

Ces selles pathologiques contiennent-elles, dans tous les cas, toutes ces espèces ? En consultant les quelques observations qui font suite à cette description, on verra qu'il n'en existe qu'un petit nombre qui soient constantes. En dehors des bactéries, vestiges de la Flore normale, *Bact. coli*, *Entérocoque*, seuls le *Bac. perfringens* et le *Bac. III de Rodella* existent dans toutes les observations, les autres semblent facultatives. C'est donc probablement l'un de ces deux bacilles qui doit jouer le principal rôle dans la genèse de cette affection. Ce ne peut être le *bacille III de Rodella*, son action fermentative est très faible et son pouvoir pathogène nul, mais plutôt le *Bac. Perfringens*, espèce très pathogène et ferment puissant.

Le *Bac. perfringens* est-il la cause déterminante réelle, ou bien végète-t-il plus facilement dans un intestin malade, par suite de lésions organiques quelconques ? Cette flore anormale est-elle, en un mot, la cause ou bien l'effet de la maladie ?

L'ingestion du *Bac. perfringens* peut-elle déterminer, chez un nourrisson, des troubles analogues à ceux que nous avons observés ? Il est difficile de faire des expériences probantes avec les animaux de laboratoire. Nous avons vu¹ que le jeune chat et le jeune chien à la mamelle possèdent dans leurs selles cette bactérie, peu virulente, il est vrai, sans que leur état général paraisse en souffrir. Il est vraisemblable qu'il existe dans leur intestin un système de défense capable de s'opposer à l'action nocive de cette espèce. Il faudra donc, avant de tenter ces expériences, essayer de diminuer leur résistance en changeant leur alimentation, en les enlevant à la mère pour les nourrir au lait de vache stérilisé. Nous avons alimenté de cette façon deux por-

tées de jeunes chats, une de 10 jours, et une autre de 20 jours; puis nous avons pris un animal de chacune de ces portées et nous lui avons fait ingérer une culture pure de *Bac. perfringens* de 24 heures et provenant d'une diarrhée. Seul le chat de 10 jours a maigri rapidement, en présentant des évacuations fétides fréquentes, liquides, jaune verdâtre, mousseuses et est mort 5 jours après le début des accidents. Nous avons sacrifié le chat témoin qui n'avait eu aucun trouble digestif apparent et nous avons ensemencé de la même façon le contenu intestinal de ces deux animaux. Le *Bac. perfringens* existait naturellement dans les 2 cas, mais plus nombreux, plus virulent et doué d'une activité fermentative plus grande chez le chat malade. Il semble donc que l'ingestion de cette bactérie ait été la cause d'une partie, tout au moins, des accidents observés. Mais, pour que cette expérience fût absolument démonstrative, il faudrait la répéter avec un animal ne possédant pas ce bacille à l'état habituel, ou mieux, si le fait était possible, la reproduire chez un enfant au sein n'ayant jamais été malade. Or, nous avons vu, au cours de nos recherches, un fait qui a toute la valeur d'une expérience. (Obs. 2.) M^{me} R... nourrissait sa fille âgée de 3 mois et 26 jours, toujours bien portante, que nous avons suivie depuis la naissance et dont nous avions examiné les selles jusqu'à *absolument normales*, ne contenant par conséquent pas le *Bac. perfringens*. Elle est sollicitée par une dame de ses amies de donner le sein, 2 fois par jour, à un nourrisson atteint de la maladie que nous venons de décrire. M^{me} R... s'y prête volontiers, tout en continuant à nourrir sa fille. Huit jours après, cette dernière présente les mêmes troubles digestifs, une diarrhée de même type, contenant les mêmes espèces, que l'enfant malade (*Bac. perfringens*, *Bac. III de Rodella*). La contamination s'était faite par le mamelon. Cette observation prouve donc que la maladie est transmissible d'un nourrisson à un autre; elle en démontre tout le caractère *infectieux*; elle n'a débuté que lorsque le *Bac. perfringens* est apparu dans les selles.

Voyons maintenant dans quel ordre vont apparaître ces *espèces anormales* dans les selles d'un enfant atteint de cette affection. Tout à fait au début, alors qu'il n'y a pas de diarrhée véritable, les déjections ont un aspect microscopique rappelant celui des selles ordinaires. Le *Bac. bifidus* semble encore

former à lui seul la Flore intestinale. L'*Entérocoque*, le *Bact. Coli* sont encore disséminés dans les préparations, mais au milieu d'eux on peut déjà voir une *bactérie anormale* : gros bacille à bouts carrés montrant un renflement à une de ses extrémités : *Bac. perfringens*.

Un peu plus tard, quand les matières fécales deviennent plus fréquentes, plus liquides, il se produit une légère *modification diarrhéique* ; les coccobacilles et les diplocoques sont plus nombreux et les gros bacilles se multiplient, ne présentent plus de formes sporulées, comme si le milieu leur devenait plus favorable. Dans la période d'état, quand la diarrhée a pris les caractères décrits plus haut, la *modification diarrhéique* est intense, le *Bac. bifidus* disparaît. A côté des gros bacilles, on voit de fins bacilles grêles, *Bac. III de Rodella*, des coccobacilles en navette, *Coccobacillus perfætens*. Quelquefois, l'infection intestinale est plus grande et d'autres espèces apparaissent : gros bacilles trapus à spore médiane *Bac. saccharobyticus*, cocci très fins, *staphylococcus parvulus*.

Dans la période de déclin, une à une les espèces survenues secondairement disparaissent : les gros bacilles butyriques d'abord, puis les coccobacilles en navette, les fins cocci et enfin les bacilles grêles. La réaction diarrhéique s'atténue progressivement. Dans les derniers jours de cette période, quand il n'existe plus que quelques bacilles grêles et le *Bac. perfringens*, on note dans les préparations quelques formes bifurquées du *Bac. bifidus*. C'est ordinairement l'annonce de la guérison. Huit ou douze heures après, l'aspect bactérien est complètement transformé. La Flore intestinale a repris le type normal et les selles redeviennent ce qu'elles étaient avant la maladie. On ne trouve plus d'*espèces anormales*.

Quand la maladie évolue chez les tout jeunes enfants, l'aspect microscopique des selles au début est différent. Il ne semble pas qu'il y ait de différence entre elles et le méconium. La *phase d'infection croissante* semble se prolonger indéfiniment. Il n'existe pas, au quatrième jour, cette *transformation de la Flore* si caractéristique. Le *Bac. bifidus* n'apparaît pas. C'est ce qui explique qu'on trouve constamment chez ces petits malades des microorganismes comme le *Staphylocoque blanc* ou les *Sarcines* qu'on ne rencontre pas chez les autres, plus âgés,

nourris par la mère. Ces deux espèces se multiplieront quand la diarrhée sera établie comme le *Bact. Coli* et l'*Entérocoque* dans la *modification diarrhéique* habituelle. Dans la période de déclin, les bactéries surajoutées disparaîtront dans le même ordre que précédemment et la transition entre la selle pathologique et la selle normale sera aussi brusque; elle semblera également en rapport avec l'apparition du *Bac. bifidus*.

Ainsi, en résumant ce qui précède, nous voyons que la maladie possède un caractère nettement infectieux, qu'elle est transmissible d'enfant à enfant par la voie buccale; nous trouvons toujours dans les selles pathologiques une *bactérie pathogène, ferment protéolytique mixte* puissant; les troubles digestifs apparaissent dès qu'elle commence à pulluler dans l'intestin, se prolongent tant qu'elle s'y trouve, disparaissent quand elle en disparaît. Nous sommes donc autorisés à croire que la cause déterminante de cette affection est l'introduction et le développement de cette espèce, *Bac. perfringens*, dans l'intestin du nourrisson.

Nous n'ignorons pas qu'on peut faire, contre cette manière de voir, plusieurs objections. Tout d'abord cette bactérie existe normalement et sans causer de troubles apparents chez de jeunes animaux en lactation, comme le jeune chien et le jeune chat. Mais c'est un fait courant et bien connu que les différentes espèces animales n'ont pas toutes la même susceptibilité vis-à-vis des bactéries pathogènes et les défenses intestinales ne sont pas toujours identiques, puisque la Flore intestinale n'est pas toujours la même.

En outre on rencontre constamment le *Bac. perfringens* dans le méconium de l'enfant. Mais nous savons que dans les premières heures de la vie, le tube digestif sans défense est envahi par les microbes de la putréfaction et que, par suite d'un ensemble de circonstances spéciales¹, ils ne peuvent s'y développer et sont rapidement éliminés. Tout dernièrement Passini² dit avoir trouvé, constamment, dans les selles du nourrisson au sein bien portant, le *Bac. du phlegmon gazeux* de Fränkel (*B. perfringens* de Veillon et Zuber), le *Bac. butyrique*

1. H. TISSIER, *Répartition des microbes dans l'intestin du nourrisson*, (*Loc. citato.*)

2. F. PASSINI, *Studien über faulnissregende anaerobe Bakt. des Normalen Menschlichen Darmes*, *Zeitschrift für hyg.*, Bd LI, n° 1, 1905.

immobile non pathogène, de Schattenfroth et Grassberger, et quelquefois le *Bac. putrificus*. Mais ces bactéries ont un aspect microscopique tellement différent des autres espèces normales, qu'il serait déjà facile de les voir dans leur forme bacillaire au simple examen direct. Or, non seulement il nous a été impossible de les voir, mais de les isoler de selles d'enfant au sein normaux *recueillies aseptiquement*. Si ces espèces s'y trouvaient, même en petite quantité, nous devrions toujours avoir la digestion du blanc d'œuf dans les tubes de bouillon non sucré, désaéré etensemencé avec une *parcelle* de ces matières, comme le fait se produit régulièrement quand il existe des protéolytiques.

Or cette digestion ne se produit jamais avec des selles normales d'enfants au sein. Chez les nourrissons alimentés, dès la naissance, au lait de vache coupé d'eau sucrée, la *Flore méconiale* disparaissant fort lentement, nous avons vu¹ qu'il est possible d'isoler encore ce *Bac. perfringens*, 15 jours, quelquefois même 1 mois et plus après la naissance, mais il est facile de se rendre compte, en examinant l'ensemble de la Flore, qu'à partir du 5^e jour cette espèce devient de plus en plus rare, végète de plus en plus mal à mesure que les bacilles *Acidophilus* et *Bifidus* se développent, et qu'enfin elle finit par disparaître. Néanmoins, la présence prolongée de cette bactérie de la putréfaction n'est certainement pas favorable à l'organisme ; elle explique en partie la fréquence et la gravité des troubles digestifs chez les enfants ainsi alimentés. Par contre, chez les nourrissons au biberon qui ont pris le sein maternel dans les premiers huit jours au moins, pas plus que chez ceux qui sont à l'alimentation mixte, on ne trouve, dans des conditions normales, le *Bac. perfringens*.

On peut encore objecter que le *Bac. perfringens* existe normalement chez l'homme. Beaucoup d'auteurs ont signalé sa présence à l'état normal, et nous avons vérifié ce fait. Mais les résistances et les sécrétions intestinales de l'adulte sont bien plus puissantes ; il peut supporter une alimentation qui serait nuisible pour un jeune enfant.

Nous ne pensons donc pas que ces différentes objections

1. H. TISSIER. Répartition des microbes dans l'intestin du nourrisson, *Annales de l'Inst. Pasteur, Thèse de Paris*, 1900, et t. XX, fév. 1905.

puissent faire changer notre manière de voir et attribuer à une autre espèce le rôle prépondérant dans la pathogénie de l'affection que nous venons de décrire.

Du reste, d'autres auteurs, avant nous, l'ont signalé dans certaines diarrhées du nourrisson. Klein¹, puis Andrewes² ont retrouvé dans des épidémies le *Bac. enteritis sporogenes*, identifié depuis avec le *Bac. perfringens* et lui ont attribué la cause déterminante des troubles digestifs.

Étudions maintenant la *répartition de ces espèces anormales dans l'intestin*. Chez un enfant ayant succombé à cette maladie, il nous a été impossible d'isoler, dans l'estomac, le duodenum et les premières parties du jejunum, d'autres bactéries que celles qui s'y trouvent d'habitude. Ce n'est que dans l'iléon que nous avons pu constater la présence de gros bacilles restant colorés par la méthode de Gram. Ils sont encore peu nombreux relativement aux autres microbes, mais leur nombre va en croissant jusqu'au rectum. Dans le cæcum, il est facile d'isoler ce *Bac. perfringens*. Le bacille III de R. commence à apparaître vers la fin de l'intestin grêle. Les autres espèces : *Coccobac. perfringens*, etc. ne paraissent végéter que dans le gros intestin.

Ces bactéries anaérobies strictes ne peuvent vraisemblablement bien se développer et produire leurs actions nocives que dans les dernières parties du tube digestif. Nous devons nous demander comment elles peuvent agir sur la muqueuse. Le *Bac. perfringens*, dont le rôle nous semble prépondérant, est très pathogène en inoculations sous-cutanées ou intra-veineuses. Ses toxines, encore inconnues, paraissent douées, d'après les travaux de Veillon et Zuber, Hallé, Rist, Guillemot, d'un pouvoir nécrosant. D'autre part, nous avons vu, dans l'étude de la *Putréfaction*, que ce bacille attaque les albuminoïdes, les protéides, les albumoïdes, au moyen d'une diastase de type trypsique et qu'il poursuit son action destructive sur les dérivés de ces substances : protéoses, amines, urée. Les corps produits dans ces dédoublements et que nous ne connaissons encore qu'imparfaitement. H₂S, indol, phénols, leucine, tyrosine, ammoniaque, acides gras et aromatiques, etc., augmenteront encore

1. KLEIN, *Report of the medi. offices local gov. board*, 1895 et 1896, 1898; *Auxiliary scient. assoc.* 1898.

2. ANDREWES, *The Lancet*, 1899, 7 janvier, p. 8.

l'irritation de la muqueuse causée par les toxines. Les autres bactéries, apparues secondairement, viendront ajouter leurs actions nuisibles à celles de l'espèce principale. Ils agiront moins par leurs toxines, car ils sont peu ou pas pathogènes, que par les substances qu'ils élaborent au cours de leur attaque des protéosées.

Ces actions multiples et complexes provoqueront, de la part de l'intestin, des réactions de défense : exsudation séreuse, sécrétion muqueuse, décharge biliaire, etc., plus abondante. Le milieu intestinal se transforme, devient liquide, contient un peu plus d'oxygène ; il n'est plus aussi favorable à toutes ces espèces anaérobies strictes, mais favorise par contre la pullulation des anaérobies facultatifs : *Bact. coli*, *Entérocoque*, etc. C'est alors qu'apparaît à l'examen microscopique ce changement d'aspect des selles (*modification diarrhéique habituelle*), qui n'est que la conséquence de ces réactions de défense. En outre, les mouvements péristaltiques de l'intestin deviendront plus intenses du fait de la distension mécanique produite par les gaz.

Tout cet ensemble de circonstances tend donc à l'élimination incessante de ces *espèces anormales*, de là ces selles si fréquentes, si liquides, si mousseuses, surchargées de matières colorantes biliaires, qui sont de règle au cours de cette affection.

CAUSES PRÉDISPOSANTES. — La température extérieure, les saisons, ne paraissent pas avoir grande influence sur le développement de la maladie. Les cas de contamination que nous avons observés se sont produits en octobre ou novembre, en plein hiver ou au printemps, à une époque où les gastro-entérites des nouveau-nés ne sont plus aussi fréquentes.

Si maintenant nous cherchons dans les antécédents des petits malades, nous voyons souvent les mères présenter quelques troubles passagers, diminuant ou modifiant la sécrétion lactée. C'est ainsi que, souvent, le début de l'infection coïncide avec des gerçures du mamelon, des poussées de lymphangite, rendant la prise du sein douloureuse. En pesant chaque tétée on peut se rendre compte de leur diminution progressive. Dans l'observation 2, la quantité de lait ingéré avait baissé, du fait des deux tétées de 100 grammes données quotidiennement à un enfant malade, et l'amélioration dans l'état général de ce dernier a-

commencé à se produire peu après l'adjonction de ces deux tétées supplémentaires. La qualité même du lait semble aussi jouer un certain rôle. L'apparition des premiers troubles digestifs a coïncidé quelquefois avec un état nerveux inaccoutumé chez la mère, avec le retour de la menstruation, avec une indisposition quelconque et, dans une observation ayant trait à un nouveau-né de quelques jours, avec une infection puerpérale. Les analyses chimiques de ces laits montrent que la quantité du beurre est diminuée de moitié, qu'ils contiennent plus d'eau, un peu plus de matières protéiques et moins de matières minérales et de lactose qu'un lait du même âge. Mais souvent aussi la quantité et la qualité du lait sont normales et il ne s'est produit chez la mère ni indisposition, ni maladie quelconque.

Il peut exister encore chez certains enfants des prédispositions spéciales. L'âge semble avoir une certaine influence. Rare au-dessus d'un an, cette maladie est fréquente chez les nouveau-nés de quelques jours ou de quelques semaines. Mais les prédispositions les plus nettes proviennent de l'état digestif antérieur.

Pour que cette infection puisse se produire, il faut que le *milieu intestinal* lui soit favorable. Il est donc nécessaire qu'il y ait une modification:

1^o De l'état chimique du contenu de l'intestin ;

2^o De la *Flore normale*.

Chez l'enfant alimenté avec du lait de vache pur ou condensé par la stérilisation, ces modifications sont inutiles, puisque son tube digestif, riche en matières fermentescibles, est déjà un milieu favorable. L'analyse chimique montre, en effet, que ses déjections contiennent une proportion considérable de matières protéiques (caséine, albumine, protéoses) et, fait encore inexpliqué, une quantité de bile (acides et matières colorantes) moindre que chez l'enfant au sein. En outre, sa Flore intestinale est moins résistante à l'action des poisons minéraux, moins *empêchante*. Nous savons que le nourrisson au biberon possède pour les infections intestinales une réceptivité particulière.

Mais, chez l'enfant au sein, au contraire, ces modifications sont essentielles. Chez lui, les déchets de la digestion sont réduits à leur minimum par suite de son alimentation parfaitement adaptée. L'analyse chimique n'y révèle que des traces de

peptone. Sa Flore intestinale est nettement *empêchante*, elle forme une sorte de barrière contre l'infection, en produisant, en milieu sucré, une acidité d'arrêt supérieure à celle des espèces anormales et en absorbant les protéoses nécessaires à leur développement. Nous devons donc nous demander comment ces bactéries étrangères pourront s'acclimater dans un milieu si pauvre et végéter au milieu de cette flore empêchante. Autrement dit, dans quelles conditions le *Bac. perfringens*, puisque c'est cette espèce qui apparaît la première, va-t-elle pouvoir se développer dans un milieu où vit la *Bac. bifidus* et se substituer à lui ?

Nous avons fait, pour élucider ce dernier point, une série d'expériences dont voici le résumé :

La disparition du *Bac. bifidus* de la flore intestinale d'un nourrisson ne peut être attribuée à la quantité ou à la nature des acides produits par le *Bac. perfringens*. En effet le *Bac. bifidus* pousse très bien dans un milieu sucré, contenant une quantité d'acide oxalique suffisante pour arrêter la culture de l'autre bactérie, jusqu'à ce qu'elle ait élevé l'acidité totale de 2,45 à 4,90 (p. 100 évaluée en $\text{SO}_4^{\text{2-}} \text{H}^{\text{2+}}$). Il pousse de même et continue son action acidifiante dans un bouillon sucré où s'est développé, puis arrêté, le *Bac. perfringens*. Ni le *Bact. coli*, ni l'*Entérocoque* ne peuvent se cultiver dans ces conditions. Quand ces quatre espèces sont ensemencées dans un même bouillon glucosé, le *Bac. bifidus* finit par dominer toutes les autres et l'acidité qu'il produit arrête leur développement dans l'ordre suivant : *Bact. coli* d'abord, *Entérocoque* ensuite et en dernier lieu *Bac. perfringens*.

Dans les milieux liquides dépourvus de sucre, les rôles sont renversés, c'est le *Bac. perfringens* qui arrête la culture du *Bac. bifidus* dont on ne trouve que quelques rares formes de souffrance, géniculées ou bifurquées, et le *Bact. coli*, l'*Entérocoque* se développent parfaitement à ses côtés. Ce ne peut être le fait d'un développement plus ou moins rapide ou plus ou moins abondant de l'un ou l'autre des deux anaérobies stricts car, séparément, ils poussent d'une façon analogue dans ces bouillcons. Il semble plutôt que le *Bac. perfringens* sécrète dans ces conditions des substances impropre à la vie du *Bac. bifidus*, substances qui ne pourraient se produire ou seraient neutra-

lisées dans les milieux sucrés. Il se passerait pour elles ce qui se produit pour les toxines. Les cultures en bouillon ordinaire contenant du blanc d'œuf sont bien plus virulentes que les cultures en bouillon sucré. En tous cas, ces substances empêchantes n'ont d'action que sur certaines espèces, car le *Bact. coli* et l'*Entérocoque* ne sont nullement gênés par elles.

On peut tirer de ces expériences les conclusions suivantes : Le *Bac. perfringens* ne peut se développer au milieu d'une flore normale d'enfant au sein que si la *constitution chimique du milieu intestinal est modifiée*, que si la proportion d'hydrates de carbone qu'il contient est notablement diminuée. Tant que cette modification ne se sera pas produite, le développement de l'espèce nuisible ne pourra pas se faire,

Cette transformation du milieu se trouve bien indiquée dans la plupart de nos observations, quand on a donné à un nourrisson au sein du lait de vache, en plus de son alimentation ordinaire, et quand la quantité ou la qualité du lait maternel a cessé d'être normale ; mais, dans les cas où aucun de ces faits n'est signalé, nous nous voyons forcés d'admettre que certains détails nous ont échappé et que nos observations sont encore incomplètes.

Quand la maladie ne paraît être que la continuation de l'*infection méconiale*, on trouve toujours chez le nouveau-né quelques anomalies. Tantôt, nous avons observé de l'ictère dès la naissance, ainsi qu'un état particulier du méconium ne contenant que fort peu de mucus, tantôt une susceptibilité spéciale de l'estomac ne permettant à l'enfant de ne supporter qu'une petite quantité de colostrum. Dans ces conditions, l'organisme ne peut se débarrasser des microbes de la putréfaction qui ont envahi le tube digestif. La transformation de la flore ne peut se produire, le *Bac. bifidus* n'apparaît pas et l'*infection méconiale* tend à persister et à se développer.

TRAITEMENT. — D'après ce que nous venons de voir, cette maladie semble causée par le développement dans l'intestin d'une *espèce anormale, anaérobie stricte, pathogène, ferment protéolytique mixte*. Le seul traitement rationnel sera celui qui amènera son expulsion du tube digestif.

Au début de nos recherches, nous avons employé les traitements classiques des gastro-entérites, tendant à réaliser l'*anti-*

septie intestinale. La *diète hydrique*, prescrite pendant 12, 24, 36 heures et quelquefois reprise après quelques jours de repos, n'a procuré aucune amélioration. L'examen microscopique des selles montrait une modification diarrhéique plus intense, une diminution légère dans le nombre des bactéries surajoutées, mais, quelques jours après, l'aspect bactérien était redevenu le même qu'auparavant. Le seul résultat vraiment appréciable était une baisse de poids plus ou moins considérable. Le *calomel*, soit à dose massive, soit à doses réfractées, ne donne pas de résultats plus satisfaisants. En combinant le *calomel* et la *diète hydrique*, nous n'obtenions pas de transformation de cette flore pathologique. Par contre, nous avons vu, avec le docteur Fosse, de Corbeil, un cas où l'action de ce purgatif avait été plutôt nuisible. Chez un de ces petits malades, où les déjections soigneusement recueillies étaient examinées quotidiennement au microscope, nous avions pu voir, au milieu des espèces anormales, apparaître des formes bifurquées typiques du *Bac. bifidus*, fait qui précède de 1 à 2 jours l'apparition des selles normales. Sur l'insistance des parents, le docteur Fosse avait dû prescrire du *calomel*. Aussitôt après, les formes bifurquées disparurent, le *Bac. perfringens* se mit de nouveau à pulluler, les troubles digestifs augmentèrent et ce ne fut que 15 jours après qu'on put voir revenir le *Bac. bifidus*. Les *grands lavages de l'intestin* ne donnent également qu'une amélioration très passagère. Ainsi, aucun des moyens employés jusqu'alors pour produire l'*antiseptie intestinale* ne parvient à transformer d'une façon durable cette flore pathologique.

Nous avons donc été amenés à chercher un mode de traitement plus efficace.

Nous nous sommes, d'abord, demandés s'il était possible d'empêcher la pullulation d'une espèce, dans l'intestin, sans avoir recours à un antiseptique ou à une substance nuisible pour l'organisme. Bienstock¹ avait déjà vu que certains microbes, comme le *Bact. coli*, le *Bact. lactis aerogenes* étaient capables, *in vitro*, d'entraver l'action putréfiante du *Bac. putrificus*, par suite d'une *force antagoniste* particulière. Nous avons, alors, cherché à vérifier et à expliquer ce phénomène et nous sommes arrivés aux conclusions suivantes² :

1. BIENSTOCK, *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XIII, novembre 1899.

2. H. TISSIER et MARTELLY, *Annales de l'Institut Pasteur*, t. XVI, déc. 1902.

Seulement dans les milieux contenant des matières albuminoïdes et plus de 10/000 de sucre, un ferment mixte peut arrêter l'action et le développement d'un ferment simple et un ferment mixte fort, l'action et le développement d'un ferment mixte faible. Ces actions empêchantes ne sont uniquement dues qu'à la quantité d'acides produits par ces bactéries au cours de leur attaque de l'hydrate de carbone. C'est ainsi que dans la putréfaction de la viande, il est facile d'entraver le processus putride et de paralyser toute action microbienne en ajoutant simplement, au milieu, une petite quantité de glucose. Les fermentes mixtes, en produisant des acides, arrêteront les fermentes simples et les fermentes mixtes s'arrêteront d'eux-mêmes quand ils auront atteint leur acidité d'arrêt. On n'observera plus de développement bactérien, plus de modification chimique, tant qu'une intervention quelconque n'aura pas détruit ou neutralisé cette acidité empêchante. Dans le lait¹, milieu très riche en sucre, la destruction complète de la caséine ne se continuera que si des micro-organismes spéciaux, comme les *champignons*, parviennent à détruire les acides élaborés au cours des fermentations acétique, lactique et butyrique. Donc, quand nous serons en présence de troubles digestifs causés par une pullulation anormale de bactéries protéolytiques, *il serait possible d'arrêter leur développement sans altérer la muqueuse, en favorisant, dans l'intestin, la culture des fermentes mixtes forts, en remplaçant une végétation microbienne nuisible par une autre indifférente pour l'organisme.*

Pour arriver à ce résultat il nous faudra : 1^o modifier la constitution chimique du milieu; 2^o faire réapparaître une flore bactérienne analogue à celle du nourrisson au sein normal. Le premier point est absolument essentiel. Les déchets de la nutrition ne devront contenir que des substances hydrocarbonées et une infime quantité de matières protéiques, ce qui ne pourra s'obtenir que par un régime où les sucres, les amidons, les graisses tiendront la plus large place, où les albuminoïdes seront supprimés ou remplacés par une quantité de protéoses juste nécessaire à la vie. Pour que la Flore ne soit plus composée que de fermentes mixtes peptolytiques, le plus simple sera de faire ingérer des cultures pures de ces espèces. Actuellement, on en

connaît un assez grand nombre, on doit simplement faire parmi elles un choix judicieux. Il est bien évident qu'on ne devra pas prendre de bactérie pathogène ou produisant dans son action fermentative des substances nuisibles pour l'organisme. Elle devra donc donner ni gaz, H^2S, CO^2 ni indol, ni phénol, ni acides irritants comme certains acides volatils ; elle devra se développer de préférence dans un milieu privé d'air et donner, dans les milieux sucrés, une acidité d'arrêt supérieure à celle des espèces nuisibles. Beaucoup d'espèces possèdent ces propriétés et parmi elles le *Bac. bifidus* et le *Bac. acidiparalactici* (Kosaï). Nous avons choisi la dernière, qui est une bactérie anaérobiose facultative, plus facile à cultiver. Elle végète facilement dans l'intestin de l'homme et favorise d'une façon très nette la réapparition du *Bac. bifidus*. Cette méthode de traitement a donc pour but de produire une *transformation de la Flore* et non pas une *antisepsie intestinale* impossible à obtenir.

Pour l'appliquer à la variété de gastro-entérite que nous venons de décrire, il faut d'abord modifier l'alimentation. Quand l'enfant est au biberon, on supprime le lait de vache pur et on donne des substances hydrocarbonées : glucose, saccharose, lactose, amidon, etc. Au bout de quelques jours, on ajoute au régime une petite quantité de lait maternisé ou mieux peptonisé, coupé d'eau. Quand le nourrisson est à l'alimentation mixte, on fait supprimer le lait de vache et on le remplace par des hydrates de carbone. Mais, quand l'enfant est uniquement au sein, on ne pourra pas diminuer ou arrêter ce mode d'alimentation sans, en même temps, nuire à la sécrétion lactée de la mère, ce qu'il faut éviter. On pourra peut-être modifier la qualité du lait et sa teneur en matières protéiques par un régime approprié : régime végétalien, augmentation de la quantité de sucre et de substances grasses ingérées. En outre on fera prendre à l'enfant, avant chaque tétée, une cuillerée à bouche d'une solution stérilisée de lactose à 1/10 par exemple.

Enfin on fera ingérer à ces nourrissons une à deux cuillerées à café par jour d'une culture pure de *Bac. acidiparalactici* ayant séjourné cinq à six jours à l'étuve à 37°.

Quand un de ces petits malades est soumis à ce traitement, on voit au bout de quelques jours les selles devenir peu à peu nettement acides ; elles perdront vite leur caractère mousseux et

deviendront muqueuses ; elles seront de moins en moins fréquentes. Les autres symptômes digestifs ne tarderont pas à s'améliorer. La langue deviendra moins blanche, les vomissements et les régurgitations plus rares. La courbe du poids sera plus nettement ascendante. Les examens microscopiques des matières fécales montreront une élimination progressive des espèces anormales, coïncidant avec l'apparition de bactéries lactiques. Enfin, la Flore normale apparaîtra indiquant la guérison définitive.

Il ne faut pas oublier que ce traitement est long, mais, contrairement à ceux que nous avons indiqués plus haut, il peut se continuer très longtemps sans danger aucun pour l'organisme et surtout sans occasionner de baisse de poids ou de rechute de la maladie.

Nous devons ajouter que cette méthode de traitement a été employée non seulement par nous, mais encore, sur nos indications, par le docteur Fosse, à Corbeil, dans d'autres maladies causées également par une pullulation anormale de bactéries protéolytiques et dont nous donnerons plus tard une description complète. Nous n'avons eu jusqu'ici que de bons résultats. Cette méthode est en tous cas très rationnelle, elle semble réaliser une partie des desiderata du professeur Metchnikoff qui disait, dès le mois de mai 1903¹ : « Il faut tâcher de transformer cette Flore sauvage de l'homme en une flore cultivée, représentée par des espèces bénignes ou au moins inoffensives. On fait des tentatives nombreuses pour régulariser diverses fermentations à l'aide de cultures pures et pour améliorer la fabrication du vin, du cidre, des fromages. Il est bien temps d'appliquer des méthodes analogues pour perfectionner les fermentations intestinales de l'homme. »

DIAGNOSTIC. — Il nous faut encore indiquer de quelle façon on pourra différencier cette variété d'*infection intestinale* des autres troubles digestifs du nourrisson. On pourrait évidemment se baser sur l'examen clinique, l'aspect spécial des matières fécales, la marche de la maladie si longue et si rebelle aux traitements ordinaires, pour établir le diagnostic, mais il est bien certain que pour ce dernier point il vaut mieux avoir

1. METCHNIKOFF, *Bulletin de l'Institut Pasteur* — Revue. — Les microbes intestinaux. T. I. — Mai 1903 et avril 1903.

recours à l'examen bactériologique des selles. Leur aspect bactérien est tellement particulier qu'un simple examen microscopique suffit souvent pour distinguer cette affection des autres diarrhées vertes.

Nous avons vu combien il est important de faire rapidement le diagnostic, car un traitement peu approprié peut prolonger la maladie et une alimentation mal dirigée aggraver le pronostic. Supprimer, par exemple, l'allaitement maternel et le remplacer par le lait de vache, peut transformer une maladie généralement bénigne en une maladie mortelle.

OBSERVATIONS

OBS. I. (obs. 44). — Mauricette C..., née le 19 septembre 1903 à 10 h. 20 du soir.

A. H. — Le père, âgé de 30 ans, ancien officier, n'a jamais été malade. La mère, âgée d'environ 22 ans, primipare, a été, jusqu'en 1901, très bien portante. A cette époque, vers le mois d'août, elle eut une attaque d'appendicite. Après avoir fait quelque temps le traitement classique, elle suivit les prescriptions du professeur Metchnikoff et prit du képhyr. Les symptômes s'amendèrent rapidement et depuis elle n'a présenté aucun trouble digestif. Au mois de février 1903, elle présenta les premiers symptômes de la grossesse qui évolua d'une façon normale. L'accouchement fut difficile. Le médecin traitant appliqua le forceps. Les trois premiers jours qui suivirent, la température et le pouls restèrent normaux. Le 22 septembre au soir, la température atteint 38° et le pouls monte à 100. Le 23, température : matin, 37°,8; soir, 37°,9; pouls, 115. Le 24, température : matin, 36,9; soir, 37°,8; pouls, 100. Le 25, température : matin, 37°; soir, 37°,8; pouls, 105. Le 26, température : matin et soir, 37°; pouls, 100. Le 27, même température; pouls 90, Le 28, pouls 85. Le 29, pouls 85. Le 2 octobre, pouls, 72.

A. P. — L'enfant né à terme pèse, à la naissance, 4.000 grammes et ne présente rien d'anormal. Le premier jour évacuation de trois selles ayant le caractère du méconium. Dans le cours de la deuxième nuit, la sage-femme donne une cuillerée à bouché de lait bouilli et de l'eau bouillie sucrée. Le lendemain, 21 septembre, la mère essaie de donner le sein toutes les deux heures. Le 22 septembre, époque où la mère commence à avoir de la fièvre, l'enfant présente après les tétées quelques régurgitations. Le médecin fait donner, par jour, deux à trois cuillerées à café d'eau de Vichy, source Célestins. Le 24 septembre, les selles deviennent jaune d'or. Le 26, on pèse l'enfant, p. 3,640. Le 28, p. 3,660. Le 2 octobre, p. 3,820 et le 6, p. 3,850. Jusqu'ici les selles avaient un aspect normal et le poids augmentait en moyenne de 21 grammes par jour.

Le 6 octobre, les selles changent d'aspect, elles deviennent plus liquides, plus fréquentes et forment sur les couches des taches vertes. Le lendemain, ces symptômes s'aggravent. On compte 5 à 6 selles dans la journée et formées d'un liquide jaune foncé, verdâtre, mousseux. L'enfant prend mal le sein, crie fréquemment, s'éveille plus souvent dans le courant de la nuit. Le médecin consulté conseille de grands lavages de l'intestin à l'eau bouillie, un par jour, durant trois jours consécutifs, et fait régulariser le nombre et la durée des tétées (une tétée toutes les deux heures et une la nuit).

Le 9 octobre, p. 3,750 grammes, en baisse de 100 grammes sur le poids du 6. Le 10 octobre, nouvelle baisse de 30 grammes, p. 3,720 grammes. Les

selles sont encore plus fréquentes, 7 à 8 dans la journée; elles sont de coloration jaune verdâtre, et, après quelque temps d'exposition à l'air, deviennent vert olive; elles sont accompagnées d'une émission abondante de gaz inodores qui les rendent mousseuses et leur donnent l'aspect de *mousse de bière*. Elles ne sont jamais très abondantes et ne contiennent qu'une petite quantité de matières solides. Dans l'intervalle de ces selles, l'enfant émet des gaz accompagnés d'une petite quantité de liquide mousseux. A chacune des tétées, l'enfant prend peu de lait. L'aspect général n'est guère modifié. On ne remarque pas de teinte subiectérique, mais une légère teinte jaune paille. Il n'y a pas de fièvre.

Le poids est irrégulier. Le 12 octobre, il monte de 40 grammes sur le poids du 10, mais le lendemain il baisse de nouveau de 10 grammes, p. 3,760. Le 14 il augmente de nouveau, p. 3,800. On remarque à ce moment une légère éruption de fines vésicules blanches, reposant sur une base érythémateuse, qui se cantonne à la face et qui dure 8 jours environ. L'enfant présente encore de l'érythème fessier, bien que les couches fussent fréquemment changées.

Les selles ont le même aspect, elles sont à réaction neutre ou faiblement alcaline. L'examen bactériologique montre qu'il s'est produit une pullulation abondante des coccobacilles et des diplocoques (*modification diarrhéique habituelle*) et qu'il existe des *espèces anormales*: *gros bacilles immobiles à bouts carrés* restant colorés par la méthode de Gram et *bacilles grêles longs flexueux*. On ne retrouve pas à l'examen direct les diplobacilles à extrémités effilées normaux.

Une parcelle de ces matières ensemencées dans un tube de bouillon ordinaire contenant du blanc d'œuf ou de la viande et fermé à la lampe après y avoir fait le vide, cause une peptonisation complète de la matière albuminoïde en un mois environ.

Les isolements, faits d'après la méthode de Veillon, montrent qu'il ne subsiste de la flore normale que le *Bac. coli* (v. commune) et l'*Entérocoque*. A côté d'eux on trouve, le *Bac. perfringens* et le *Bac. III de Rodella*. Les caractères morphologiques et chimiques de ces deux espèces ne présentaient rien de particulier. La première seule était pathogène et tuait le cobaye en 8 heures à la dose de 1 c. c. d'eau d'exsudation d'une gélose sucrée, ensemencée depuis 24 heures.

A la suite de cette constatation, l'enfant est mis à la diète hydrique pendant 12 heures.

On recueille pendant ce temps le lait maternel pour le soumettre à l'analyse chimique. Nous n'avons malheureusement pas pu nous en procurer le résultat, mais, d'après les personnes qui en ont pris connaissance, le lait examiné ne présentait rien d'anormal, sauf peut-être une diminution légère dans la quantité des matières grasses.

Le 13 octobre, p = 3,780 grammes. La mère, attribuant les troubles survenus chez son enfant à l'insuffisance de son lait, prie une de ses amies, Mme R..., nourrissant sa petite fille âgée de trois mois et demi, jusque-là bien portante, de l'aider à nourrir la petite malade en lui donnant deux tétées par jour en plus de ce qu'elle pouvait lui donner.

Le 16 octobre, p = 3,785 grammes. Le 21 même état général, même

poids. L'examen bactériologique ne montre aucune modification de la flore anormale. Le 25 octobre, dix jours après que Mme R..., a commencé à donner les tétées supplémentaires le poids est de 3,775 grammes en diminution de 210 grammes sur le poids au début de la maladie. L'examen des selles ne montre aucun changement.

A partir du 28 octobre, il semble se produire une légère amélioration. Le poids augmente de 100 grammes en 3 jours, quoique les selles aient gardé le même aspect.

Le 30 et le 31 octobre, même examen bactériologique ne montrant aucune modification, sauf peut-être une réaction diarrhéique moins intense.

Le 1^{er} novembre, l'état général est meilleur. L'enfant crie moins, les selles sont moins fréquentes.

Le 2 novembre, même aspect microscopique des matières fécales. Le poids continue à progresser; 6 novembre = 4,095 grammes; 8 novembre = 4,410 grammes; 12 novembre = 4,325 grammes.

Le 13 novembre, l'examen des selles indique un léger changement consistant en une diminution du nombre des gros bacilles (*Bac. perfringens*) qui commencent à donner des spores. Les bacilles grêles (*Bac. III de Rodella*) sont encore nombreux.

Cette transformation s'accentue les jours suivants: 15 novembre, $p = 4,430$ grammes; 18 novembre, $p = 4,565$ grammes. On ne compte plus le 19 novembre que 3 selles dans les 24 heures. Les troubles digestifs ayant presque disparu, Mme R... cesse de donner les deux tétées supplémentaires.

Malgré cette diminution dans la quantité de lait ingéré, le poids continue à monter, le 22 novembre = 4,640 grammes; le 26 = 4,715 grammes; le 29 = 4,830 grammes; le 3 décembre = 4,940 grammes; le 6 décembre = 5,050 grammes. Depuis le 22 novembre, les selles ne sont plus mousseuses, elles sont moins vertes quelques heures après l'émission, mais l'examen microscopique montre encore qu'elles sont anormales.

Le 10 décembre, $p = 5,100$ grammes; on ne compte plus que deux selles dans les 24 heures, de coloration jaune d'or et de consistance normale. L'examen microscopique indique alors qu'il s'est produit un changement radical. Une seule espèce semble former à elle seule la flore, c'est un diplo-bacille à extrémités effilées gardant la coloration par la méthode de Gram (*Bac. bifidus*); à côté de lui on peut voir quelques rares échantillons de coccobacilles (*Bact. coli*) et de diplocoques (*Entérocoque*). C'est l'aspect de la *flore normale*.

L'état général, les fonctions digestives de l'enfant ne présentent plus rien de particulier à signaler. Le poids continue à augmenter: 13 décembre, = 5,185 grammes; 17 = 5,285 grammes; 20 = 5,330 grammes; 24 = 5,430 grammes; 27 = 5,450 grammes, etc.

Un examen fait le 29 décembre montre que l'aspect microscopique est resté le même.

Le 2 janvier, $p = 5,620$ grammes. La mère, fatiguée par les visites du jour de l'an, semble moins bien portante. Aussitôt l'enfant émet des selles de coloration verte, peu fréquentes (3 par jour) sans changement appréciable de consistance, et nullement mousseuses.

Les examens bactériologiques, pratiqués à ce moment, permettent d'affirmer qu'il ne s'est produit aucune infection intestinale. On ne peut isoler aucune espèce anormale. L'aspect microscopique est resté le même.

Le 7 janvier $p = 5,785$ grammes; $40 = 5,840$ grammes; $44 = 5,940$ grammes; $47 = 6,020$ grammes.

Le 11 février, un nouvel examen bactériologique des selles montre que la flore a gardé son même caractère normal. Une parcelle de ces matières ensemencée dans du bouillon ordinaire contenant du blanc d'œuf et fermé à la lampe après y avoir fait le vide, n'occasionne plus la digestion de la matière albuminoïde.

Depuis cette date, dans le courant de l'année 1904, tous les examens des selles ont toujours montré l'aspect classique des selles normales.

Obs. II (45). — Elise R..., née le 10 juillet 1903.

A. H. Père âgé de trente-trois ans, dessinateur, actuellement bien portant, n'a jamais été malade. Mère âgée de trente et un ans, bien portante jusqu'à l'âge de quinze ans, de quinze à vingt-cinq ans a été souvent malade. Elle se plaignait d'essoufflement au moindre effort, de fatigues, de lassitude, etc.

Un traitement et un régime approprié serait parvenu à faire disparaître ces troubles généraux. Elle se marie à trente ans et six mois après son mariage présente les premiers symptômes de la grossesse qui évolue d'une façon normale. L'accouchement, qui eut lieu le 10 juillet 1903, fut assez pénible (présentation du siège) et ne fut suivi d'aucun accident.

A. P. — L'enfant, du sexe féminin paraît bien constituée. Elle est nourrie par la mère. Cet allaitement très bien réglé ne présente rien de particulier à signaler.

La courbe de poids de l'enfant est absolument normale.

Vers le 15 septembre, la mère, voulant assister à un mariage, confie sa fille à sa sœur pendant une journée. Au lieu du sein on donne alors à l'enfant un biberon d'eau bouillie et un biberon de lait stérilisé. L'enfant rejette ce lait. Le lendemain elle est remise au sein et il ne s'est produit aucun autre accident. La courbe du poids redévie aussitôt ascendante. Les selles ont toujours gardé l'aspect classique des selles d'enfants normaux au sein. Elles sont jaunes d'or, n'ont aucune odeur, sont émises régulièrement au nombre d'une par 24 heures. Souvent même on en compte une tous les 2 jours. L'état général de l'enfant est excellent. Le teint est rosé. Les chairs sont fermes.

Le 6 octobre, l'examen bactériologique montre l'aspect typique d'une selle normale d'enfant au sein. La Flore intestinale se montre, comme c'est toujours le cas chez ces nourrissons, presque exclusivement formée par une seule espèce anaérobie striée, *Bac. bifidus*.

Le 15 octobre, une amie de la mère, Mme C..., vient la prier de donner à sa fille Mauricette une à deux tétées supplémentaires. Cette dernière petite fille, âgée alors de 18 jours présentait depuis 8 jours des troubles digestifs inquiétants. Elle avait une diarrhée jaune foncé, mousseuse, formant sur les langes des taches vert olive. Le poids baissait et dans les dix derniers jours avait diminué de 60 grammes. Mme C... était fort inquiète, attribuait tous ces

accidents à la mauvaise qualité de son lait (voir observation 4). La mère, qui avait du lait en abondance, dont l'enfant était bien portant, alors âgée de 3 mois et 5 jours, consent à rendre ce service à Mme C... Elle donne deux tétées par jour à la petite Mauricette, une le matin vers 10 heures et une l'après-midi vers 3 heures, tout en continuant à nourrir sa fille comme par le passé.

Le 23 octobre, par conséquent huit jours après que la mère avait donné le sein à la petite malade, Elise R... émet deux selles dans les 24 heures; la première molle jaune d'or, la seconde d'une coloration plus foncée et accompagnée d'une quantité de gaz plus abondante que de coutume, Le lendemain elles deviennent mousseuses. Les jours suivants elles augmentent de fréquence et tachant nettement les couches en vert olive.

Le 4 novembre on peut compter de 6 à 8 selles dans les 24 heures. Elles sont alors liquides, jaune foncé, accompagnées d'une émission abondante de gaz qui les rend mousseuses et leur donne l'aspect de la *mousse de bière*. Par oxydation elles deviennent vertes. Dans l'intervalle des selles, on remarque, fréquemment, sur les couches, des taches vertes, de grandeur variable.

L'examen bactériologique fait à ce moment montre un changement important dans l'aspect microscopique de la flore. Les diplobacilles à extrémités effilées (*Bac. bifidus*) ne forment plus l'espèce dominante. Les coccobacilles décolorés par la méthode de Gram et les diplocoques, rares et disséminés dans les préparations faites le 5 octobre, ont notablement proliféré (*Modification diarrhéique habituelle*). A côté de ces 3 espèces on note la présence d'une bactéries anormale: *gros bacilles* à bout carrés possédant des spores et gardant la coloration par la méthode de Gram. Ils ne sont pas encore très nombreux dans les préparations.

Le 6 novembre, les troubles digestifs s'aggravent. On peut compter de 10 à 12 selles par jour. On fait un nouvel examen des matières fécales. Elles sont très liquides, mousseuses, sans odeur et de réaction légèrement acide. Au microscope on constate que la réaction diarrhéique est intense. Les coccobacilles et les diplocoques sont en très grand nombre et les diplobacilles à extrémités effilées ont complètement disparu. Les gros bacilles ne donnent plus de spores et sont en grande quantité. A côté d'eux on note la présence d'une nouvelle espèce: un fin *bacille grêle*, long et flexueux. Les isolements nous montrent de nombreuses colonies de *Bact. coli* (v. commune) et d'*Entérocoques* ayant les mêmes caractères morphologiques et chimiques que ceux des selles normales et dont les propriétés pathogènes ne sont guère exaltées. Mais on ne peut trouver aucune colonie de *Bac. bifidus*. Les espèces anormales sont le *Bac. perfringens* et le *Bac III de Rodella*. La première était très pathogène. Leurs propriétés chimiques et biologiques étaient les mêmes que celles présentées d'ordinaire par ces deux bactéries.

D'après ce que nous venons de voir, ces selles sont anormales et de même type que celles de Mauricette C... Une parcelle ensemencée dans des tubes contenant du blanc d'œuf provoque également, dans les mêmes conditions, la disparition de la matière albuminoïde.

Cependant, malgré les troubles digestifs que nous venons de signaler, l'état général de l'enfant ne s'est guère modifié. Elle crie peut-être un peu.

plus fréquemment que d'habitude et sans cause apparente, et la teinte de la peau est moins rosée, mais on ne constate ni éruption, ni érythème fessier. Il n'y a pas de fièvre. Seule la courbe du poids indique un changement dans l'état général de l'enfant. Depuis le 4 novembre elle cesse d'être ascendante et, après avoir baissé pendant quelques jours, reste stationnaire.

A partir du 10 novembre, il semble que les troubles digestifs s'améliorent quoiqu'on n'ait prescrit aucun traitement et que l'alimentation n'ait été nullement modifiée. La diarrhée est moins liquide. Les selles sont un peu moins fréquentes et ne sont plus aussi mousseuses. Leur coloration est moins foncée et par exposition à l'air elles ne deviennent plus vert-olive.

Le 13 novembre, la mère cesse de donner le sein à Mauricette C... et continue de nourrir son enfant comme auparavant. L'amélioration constatée les jours précédents persiste. On ne compte plus que 2 selles au maximum dans les 24 heures, de consistance et de couleur normales. L'enfant est plus gaie. Le teint devient rosé. La courbe du poids est de nouveau ascendante. A cette date, le poids est un peu au-dessus du poids du début de la maladie. Du 15 octobre au 15 novembre, l'enfant n'a augmenté que de 10 grammes.

Le 20 novembre, la mère est obligée de donner un lavement à l'enfant pour obtenir une selle.

Le 27 novembre, l'état de l'enfant est redevenu normal. Les matières sont molles, de coloration jaune d'or. On fait un nouvel examen bactériologique qui montre que les selles ont repris l'*aspect caractéristique habituel des selles d'enfant au sein*. Les *espèces anormales* ont disparu.

Depuis, la courbe du poids n'a cessé de progresser. Les différents examens qui ont été faits, des selles de cette enfant, ont toujours montré ce même aspect normal.

Actuellement l'enfant, âgée de 16 mois, est très bien portante.

OBS. III (41). — André S..., né le 7 septembre 1902, à 9 heures du matin.

A. H. Père bien portant, bien constitué, n'a jamais été malade. Mère âgée de 20 ans, également bien portante. Les premiers signes de la grossesse ont apparu 2 mois après le mariage; elle a évolué normalement. L'accouchement s'est produit sans accident.

A. P. L'enfant, né à terme, paraît bien constitué; il pèse 3,880 grammes et mesure 0m,51. On commence l'alimentation dans la journée, vers 4 heures du soir, c'est-à-dire 7 heures après la naissance. Les premières évacuations de méconium se produisent dans la soirée.

Le 8 septembre, la mère aurait eu une élévation de température, qualifiée « fièvre de lait » par la sage-femme. Cette fièvre légère n'aurait duré qu'un ou deux jours. La mère commença à donner le sein toutes les 2 heures et l'enfant sembla le prendre très facilement. Le 9 septembre, l'évacuation du méconium semble terminée, car vers la fin de la journée, les selles changent de couleur et commencent à devenir jaunes. L'enfant paraît toujours bien portant, ne présente aucune agitation et s'endort régulièrement après chaque tétée. Le 10 septembre, les selles prennent l'*aspect caractéristique des selles normales d'enfant au sein* et deviennent nettement jaune d'or. Le 11 septembre, la mère est nerveuse, agitée; malgré les précautions prises (lavages du sein après chaque tétée avec de l'eau boriquée), elle remarque que les

prises du sein sont douloureuses. Le médecin constate la présence de crevasses du mamelon et le fait recouvrir, dans l'intervalle des tétées, de vaseline boriquée. Les gercures augmentent et la mère éprouve de grandes difficultés à donner le sein pendant dix minutes. Le 12, les douleurs deviennent plus vives, et se continuent dans toute la journée du 13. Le 14 septembre $P = 3,860$ grammes, l'enfant s'alimente mal, car les tétées deviennent fort irrégulières. On remarque alors que les selles sont un peu plus fréquentes, elles sont moins jaunes et présentent des filaments verdâtres. Les jours suivants, ce même état des matières fécales persiste. La mère est de plus en plus nerveuse et irritable, redoutant les moments des tétées. Le médecin consulté prescrit de donner à l'enfant une potion contenant une petite quantité d'acide lactique, ce qui n'amène aucune modification dans l'aspect et la coloration des selles. Elles restent un peu liquides et ne dépassent pas le nombre de 3 dans les 24 heures. Ce ne sont nullement des matières diarrhéiques. Elles n'ont jamais été mousseuses. L'aspect général de l'enfant ne se modifie pas. Il s'alimente toujours mal. Le 21 septembre $P = 3,850$ grammes, en diminution de 10 grammes sur la pesée du 14. Pendant toute la semaine qui suit, la mère éprouve toujours les mêmes douleurs, en donnant le sein, et la même gêne, et, l'enfant prenant moins de lait. Il s'ensuit que la sécrétion lactée diminue progressivement. Le 28 septembre, le poids baisse et atteint 3,820 grammes. Le médecin conseille alors de suppléer à cette alimentation défectueuse au moyen d'un biberon contenant 100 grammes de lait bouilli et 50 grammes d'eau sucrée. Il fait donner à l'enfant, toutes les 2 heures, une cuillerée à café de la potion suivante :

Élixir parégorique	5 gouttes.
Acide lactique	3 grammes.
Sirop de ratanhia	50 —
Eau de fleurs d'oranger	40 —
Eau de chaux	90 —

et pour les crevasses du sein prescrit la pommade suivante :

Orthoforme	0 gr. 30.
Résorcine	4 grammes.
Tannin	4 —
Glycérolé d'amidon	30 —

A la suite de ce traitement, la mère donne plus régulièrement et plus facilement le sein. L'état de l'enfant s'améliore. Les selles deviennent plus jaunes, plus épaisses. On n'en compte plus qu'une dans les 24 heures. L'enfant est toujours très calme, son état général est bon. Après chaque biberon il a des régurgitations. Le poids augmente : le 5 octobre = 3,990 grammes; le 12 octobre = 4,180 grammes; le 22 octobre = 4,425 grammes; le 26 octobre = 4,458 grammes.

Ainsi, nous voyons, d'après ce qui précède, que le 14 septembre, 7 jours après la naissance, le poids n'était que de 20 grammes inférieur au poids primitif. Il devait donc récupérer ce poids dans les délais normaux. L'alimen-

tation étant devenue difficile par suite des crevasses du sein, ce fait n'a pu se produire que vers le 22^e ou 23^e jour. Pendant toute la durée du mois suivant, la courbe du poids est parallèle à la courbe normale,

Le 1^{er} novembre les parents quittent Angoulême, où ils avaient résidé depuis l'accouchement, et reviennent à Paris. Au lieu de donner du lait ordinaire, bouilli, pour les biberons complétant l'alimentation au sein, on donne du lait stérilisé du commerce. Le 2 novembre, p = 4,510 grammes. Les selles de l'enfant changent légèrement d'aspect. Elles deviennent plus fréquentes, de coloration grise, de consistance plus ferme et légèrement fétides. Le 3 novembre, elles sont formées d'un liquide jaune verdâtre, contiennent des grumeaux grisâtres et s'accompagnent d'une abondante émission de gaz. Le 4 novembre, cette diarrhée devient plus fréquente. Le 5 novembre on compte jusqu'à 45 selles dans les 24 heures. Elles sont relativement peu abondantes. Elles sont formées d'un liquide jaune foncé qui, sur les couches, devient rapidement vert olive. Elles sont spumeuses et prennent l'aspect de *mousse de bière*. L'enfant tête très peu, refuse parfois le sein et le biberon, il crie souvent, s'éveille constamment la nuit. On note à ce moment une éruption vésiculeuse sur tout le corps. Le 6 novembre, p. 4,300 grammes, en baisse de 210 grammes sur le poids du 2 novembre.

Le médecin fait alors immédiatement cesser les biberons, prescrit la diète hydrique et envoie les selles à l'Institut Pasteur, où elles sont examinées.

Examen bactériologique : au microscope, pullulation très marquée des coccobacilles et diplocoques. Il est impossible de voir dans les préparations des diplobacilles à extrémités effilées ou des bacilles bifurqués. Par contre, on note la présence d'espèces anormales ; gros bacilles à bouts carrés et bacilles moyens à bouts arrondis, longs, parfois flexueux ou incurvés. La méthode de Gram montre que les gros bacilles, bacilles moyens, et les cocci restent colorés. Les préparations microscopiques montrent une *modification diarrhéique intense* et la pénétration dans le tube digestif d'*espèces anormales*.

Isolements : Les milieux ordinaires non désaérés ne permettent d'isoler que deux espèces : *Bact. coli* (v. commune) et *Entérocoque*. Les milieux privés d'air indiquent l'existence de bactéries anaérobies stricts. Gros bacilles sporogènes (*Bac. perfringens*) et bac. moyen (*Bac. III de Rodella*).

Il est impossible d'obtenir de colonies du *Bac. bifidus*.

Le 7 novembre, l'enfant ne prenant aucune autre alimentation que de l'eau bouillie, on fait recueillir le lait maternel pour le soumettre à l'analyse chimique.

Voici les résultats de cette analyse faite par M. Martelly.

Lait recueilli.	Lait normal de même âge (A. Gauthier).	
Extrait sec	9.85	12.45
Cendres.....	0.21	0.80
Eau.....	91.45	87.55
Beurre.....	1.82	4.40
Lactose.....	6.63	6.90
Matières protéiques.....	4.49	0.85

Ainsi ce lait contient plus de moitié moins de beurre, plus de matières protéiques, plus d'eau, un peu moins de lactose et moins de matières minérales qu'un lait provenant d'une femme dont le nourrisson est bien portant et de même âge que le petit malade.

Le 9 novembre, les troubles digestifs restent les mêmes. La diarrhée n'est pas modifiée.

L'examen bactériologique montre simplement une exagération de la *modification diarrhéique* due à la diète hydrique.

Le 10 novembre, p = 4,400 grammes. En présence de l'insuccès de la médication prescrite, on fait donner à l'enfant, le 11 novembre au matin, 0^{gr}.03 de calomel et dans la journée uniquement de l'eau bouillie. Le 14 novembre, aucun changement ne s'est produit, les selles ont le même aspect que précédemment. L'examen bactériologique ne révèle aucune modification de la flore intestinale. Le poids a simplement baissé de 70 grammes, p = 4,330 grammes. Le 18 novembre, p = 4,430 grammes, mêmes troubles digestifs, même état général et même aspect bactériologique des matières fécales. Le 22 novembre, sans cause apparente, le poids baisse de nouveau de 45 grammes, p = 4,415 grammes.

Tous les traitements faits jusqu'alors n'ayant produit aucun résultat appréciable, aucune amélioration, on cherche à produire une antisepsie intestinale plus intense et, le 23 novembre, on fait donner, pendant 3 jours de suite, du calomel (le premier jour 0^{gr}.3, le second 0^{gr}.02, le troisième 0^{gr}.04) et dans la matinée, après l'ingestion du calomel, on ne donne que de l'eau bouillie. Le 26 novembre, p = 4,396 grammes, aucune amélioration. L'aspect microscopique des selles reste le même.

Le 3 décembre, p = 4,435 grammes, même état anormal des selles. Le calomel à haute dose ou à doses répétées et la diète hydrique ne parvenant pas à changer l'aspect de la flore, on fait donner deux grands lavages de l'intestin matin et soir pendant 5 jours consécutifs. Le 6 décembre, p = 4,500 grammes. Le 7 = 4,535 grammes. Le 8 = 4,555 grammes. Le 9 = 4,570 grammes. Le 10 = 4,580 grammes. L'examen bactériologique des selles montre que ce traitement n'a produit aucun résultat. Les espèces anormales sont toujours en grande quantité.

Nous devons cependant faire remarquer que, depuis le 6 décembre, le poids de l'enfant a dépassé le poids du début de la maladie (2 novembre) et qu'il augmente régulièrement, le premier jour de 35 grammes, le second de 20 grammes, le troisième de 15 grammes et le quatrième de 10 grammes.

Le 11 décembre, p = 4,612, les selles sont un peu plus jaunes, glaireuses au lieu de mousseuses et un peu moins fréquentes. Le 12, p = 4,630. Le 13 = 4,700 grammes. Le 14 = 4,725 grammes. Le 15 = 4,770 grammes. On ne compte plus alors que 2 selles par jour. L'enfant reste un peu pâle, mais crie moins fréquemment. Il est plus éveillé et son état général semble meilleur.

Il nous a été malheureusement impossible de poursuivre l'examen bactériologique des selles pendant cette période de déclin de la maladie et de voir à quelle époque exactement avait reparu la flore normale. Nous ne pouvons donner que la courbe de poids qui redévient normale à partir de cette époque.

Le 21 décembre = 4,880 grammes. Le 24 = 4,910 grammes. Le 28 = 5,001 grammes. Le 1^{er} janvier = 5,040. Le 8 = 5,110 grammes. Le 11 = 5,160 grammes. Le 18 = 5,200 grammes. Le 1^{er} février = 5,380 grammes. Le 1^{er} mars = 5,800 grammes. Le 1^{er} avril = 6,120 grammes. Le 1^{er} mai = 6,575 grammes. A l'âge de 9 mois, l'enfant a sa première dent.

OBS. IV. (58.) — Lucie N... née à Paris le 15 mai 1903.

A. H. — Le père et la mère sont actuellement bien portants. On ne trouve pas de tuberculose ou de syphilis dans les antécédents directs. La mère a déjà eu trois enfants, tous très bien constitués et venus à terme. Après une grossesse normale, elle accoucha le 15 mai de deux jumeaux. L'accouchement se fit régulièrement et ne fut suivi d'aucune complication. Le premier enfant est d'apparence saine, bien constitué.

A. P. — Le deuxième enfant, Lucie N..., présente dans la région lombaire une tumeur, molle, du volume d'un œuf de poule (*spina bifida*) et un double pied bot. Au dire de la mère on aurait vu à la naissance dans la région fessière et vulvaire de petites plaques rouges (?). Par la suite on n'aurait vu ni coryza, ni d'autres éruptions pouvant faire songer à de la syphilis. L'enfant est élevée au lait de vache. Cette alimentation aurait été faite très régulièrement et suivie très minutieusement, car on n'a jamais noté de troubles digestifs, vomissements, gastro-entérites, etc. Elle n'a jamais été malade et la courbe du poids est régulière. Les selles auraient toujours été épaisses, de la consistance et de la couleur du mastic, comme les selles normales des nourrissons au lait de vache.

Dans les premiers jours du mois de mars 1904, l'enfant étant très bien portante, alors âgée de 9 mois et demi, le médecin de la famille conseille aux parents de la faire opérer et la recommande, dans ce but, au docteur Grisel, chef de clinique du professeur Kermisson. Comme à cette époque, il n'y avait pas de lit disponible dans le service de chirurgie, on fait admettre l'enfant à la crèche de la clinique du professeur Grancher.

Elle y entre le 15 mars, pèse 5,550 grammes. Elle a dans la journée 2 selles de consistance et d'apparence normale. On alimente l'enfant avec du lait stérilisé du commerce, non coupé d'eau. La température est de 37°,2; rectale.

Le 16 et le 17, 2 selles jaunes consistantes. Le 18, p = 5,570 grammes, 2 selles de même aspect. Le 21, p = 5,550 grammes, 3 selles normales. Le 22, 3 selles. Le 23, p = 5,400 grammes, 3 selles. Le 24, 3 selles. Le 25 même nombre de selles toujours de même apparence, p = 5,430 grammes. Le 26, 3 selles. Le 27 id., p = 5,430 grammes. Le 28, 2 selles jaunes consistantes. Le 29, 3 selles. Le 30 même nombre de selles, même apparence normale, p = 5,450 grammes. Pendant tout ce temps, la température prise matin et soir oscille entre 36°,8 et 37°,2.

Le 1^{er} avril, l'enfant très bien portante est admise dans le service de chirurgie, salle Baudelocque. A partir de cette date, notre observation est malheureusement moins précise, puisque nous n'avons pas pu avoir, entre les mains, la courbe du poids et celle de la température. Mais le docteur Grisel a bien voulu nous communiquer les renseignements suivants :

L'enfant est alimentée avec du lait stérilisé pur, comme à la crèche de la

clinique médicale. Quelques jours après son entrée dans le service de chirurgie, on remarque que l'enfant a des selles plus fréquentes, plus liquides, d'une coloration jaune verdâtre. Cette diarrhée fait différer l'intervention projetée. Mais les troubles digestifs, loin de s'améliorer, augmentent. L'enfant a des régurgitations, prend mal le biberon. Les selles augmentent de fréquence, deviennent de plus en plus liquides sans être très abondantes et prennent, par exposition à l'air, une coloration vert olive. La température s'élève et oscille autour de 38°. Le poids diminue tous les jours. Puis cette diarrhée devient incessante. L'état général est très mauvais.

L'enfant pâlit, s'amaigrit rapidement et finalement prend un aspect cachectique. Il meurt le 10 avril.

La durée de cette maladie n'aurait pas dépassé une semaine.

AUTOPSIE, faite le 11 avril.

Estomac : Distendu, contient un liquide de coloration blanchâtre dans lequel flottent de fins grumeaux de caséine. Réaction franchement acide.

A l'examen microscopique, on constate la présence de nombreuses formes bacillaires, fines, gardant la coloration de Gram, de fins diplocoques ayant les mêmes caractères de coloration et des coccobacilles décolorés par cette méthode. Les bacilles sont de beaucoup les plus nombreux. On ensemence un tube de gélose profonde à 100°, cinq tubes de gélose profonde sucrée par dilution, quatre tubes de gélose ordinaire inclinée et un tube de bouillon ordinaire, contenant du blanc d'œuf, dans lequel on fait le vide et qu'on ferme ensuite à la lampe.

Le 31 octobre, l'albumine n'est pas attaquée. Le tube ensemencé à 100° ne donne aucune colonie. On isole des autres tubés le *Bac. exilis* (espèce dominante) le *Bac. coli* (variété communior de Durham) et l'*Entérocoque*.

Duodenum : la muqueuse est d'apparence saine. Le contenu est formé d'un liquide jaune sale, verdâtre, de réaction légèrement acide. On n'y voit, au microscope, que peu de micro-organismes. Les bacilles grêles sont encore en grande quantité. Les coccobacilles et les diplocoques existent également.

Les ensemencements sont faits de la même façon. Le tube ensemencé à 100° ne donne aucune colonie et l'albumine du bouillon privé d'air n'est pas attaquée.

On trouve les espèces suivantes : *Bac. exilis*, *Bac. acidophilus*, *Bac. coli*, *Entérocoque*.

Jejuno-iléon : muqueuse d'apparence normale. Les follicules clos et les plaques de Peyerne sont pas tuméfiées. Contenu formé d'une matière liquide jaune foncé avec grumeaux d'un vert noirâtre. Réaction légèrement acide.

Au microscope on constate que les formes bacillaires sont plus rares que dans les parties examinées plus haut. Par contre, les coccobacilles et les diplocoques ont nettement proliféré. En plus de ces formes bactériennes, on peut encore voir des diplobacilles à extrémités effilées dont quelques-uns sont bifurqués, quelques bacilles grêles filiformes et quelques très rares gros bacilles. Toutes ces bactéries, sauf les coccobacilles, gardent la coloration par la méthode de Gram.

Les isolements nous ont permis de noter la présence des espèces citées

plus haut : *Bac. exilis*, *Bac. coli* (v. communior) *Bac. acidophilus*, *Entérocoque*, puis d'autres bactéries : *Bac. bifidus*. Nous n'avons pas pu obtenir en culture pure le gros bacille.

Cœcum : muqueuse légèrement congestionnée. Matière de consistance pâteuse de coloration jaune terne. Réaction neutre ou légèrement alcaline. À l'examen microscopique on note par ordre de fréquence, des diplocoques (*Entérocoque*), des coccobacilles (*Bac. coli*), des bacilles moyens (*acidophilus*) des bacilles grêles (*Bac. exilis*), des diplobacilles (*Bac. bifidus*) et enfin quelques gros bacilles colorés par la méthode de Gram (*Bac. perfringens*).

Rectum : muqueuse légèrement congestionnée. Contenu liquide, de coloration jaune verdâtre. Réaction faiblement alcaline. À l'examen microscopique, on constate qu'aucune espèce n'est absolument prédominante. Les diplocoques et les coccobacilles sont encore très nombreux. Mais à côté d'eux on peut voir des bacilles bifurqués, des bacilles moyens, des bacilles grêles parfois en streptobacilles, des gros bacilles. Toutes ces bactéries, sauf les coccobacilles, prennent la coloration par la méthode de Gram. Les milieux,ensemencés à 100°, nous ont donné des colonies lenticulaires gazogènes. Le bouillon au blanc d'oeuf privé d'air a montré, au bout d'un mois d'étuve, une attaque de l'albumine avec production de pigments noirs et transformation de la matière protéique restante en une masse vitreuse et transparente.

Nous avons pu isoler : *Bac. coli*, *Entérocoque*, *Bac. exilis*, *Bac. Acidophilus*, *Bac. bifidus*, *Bac. perfringens*, *Bac. III de Rodella* (?) *coccobacillus perfetens*.

En résumé, ce n'est que dans le jejunum-iléon que nous avons pu noter la présence d'une espèce anormale et dans le rectum celle des deux autres bactéries surajoutées. La *modification diarrhéique* n'a commencé à se produire que vers la fin ou le milieu de l'intestin grêle.

OBS. V. (42). — Pierre B. , D... né à Paris le 20 mars 1903.

A. H. — Le père, âgé de 37 ans, artiste peintre, est robuste, très bien portant et n'a jamais été malade. La mère âgée de 27 ans, est également très bien portante. Elle se marie en mai 1902. Deux ou trois mois après, elle présente les premiers signes de la grossesse, qui évolue sans le moindre accident. L'accouchement se fait normalement et n'est suivi d'aucune complication.

A. P. — L'enfant, né à terme, paraît bien constitué. Il pèse 3,500 grammes. Il présente pourtant une teinte de la peau légèrement subictérique. Dans les premières 24 heures, on ne donne à l'enfant qu'une cuillerée à café d'eau stérilisée.

Le 22 mars, p=3,490 grammes. La mère essaie de donner le sein. Le 23 mars, nouvel essai répété toutes les deux heures. À chacune de ces tétées on constate que l'enfant prend mal le sein et qu'il n'ingère que quelques gouttes de colostrum. L'évacuation du méconium est abondante ; il est formé d'une masse épaisse de coloration vert noirâtre, mais très peu visqueuse. L'examen microscopique de ces matières indique la présence de rares *cocci*, de gros bacilles à extrémités carrées très nombreux, de bacilles grêles en chainettes. Tous ces micro-organismes restent colorés par la méthode de Gram. On note encore de nombreuses cellules épithéliales. C'est, en un mot,

l'aspect ordinaire d'une selle méconiale de 3 jours (*période d'infection croissante*). La seule particularité à signaler est l'absence presque complète des longs filaments de mucus, si abondants d'habitude à cette période.

Le 24 mars, $p = 2,950$ grammes. L'enfant crie, s'alimente toujours mal. On examine de nouveau les selles qui présentent le même aspect que la veille. L'enfant est alors âgé de 4 jours et, d'ordinaire, à cette époque, la flore intestinale commence à prendre le type classique de la flore des enfants au sein qu'elle garde jusqu'au sevrage : c'est la *phrase de transformation de la flore*. En outre, la baisse de poids s'arrête, elle ne dépasse guère le 2^e ou le 3^e jour et oscille entre 450 et 350 grammes. Or nous voyons, dans cette observation, qu'elle va se prolonger jusqu'au 5^e jour (le 25 mars $p = 2,925$ grammes), qu'elle atteint 550 grammes et qu'il ne se produit pas dans l'aspect microscopique des selles cette transformation habituelle.

Le 26 mars, $p = 2,950$ grammes. Les matières fécales sont liquides, verdâtres. Au microscope on constate la prolifération des formes rondes et une diminution dans le nombre des gros bacilles qui sont presque tous sporulés. L'appétit de l'enfant semble meilleur.

Le 27 mars, $p = 3,000$ grammes, le 28 = 3,060 grammes, le 29 = 3,080 grammes. Malgré cette augmentation de poids, l'état général de l'enfant est loin d'être satisfaisant. Il est agité, crie presque continuellement. Il se déchire la figure avec ses ongles, au point qu'on est obligé de lui attacher les mains. La teinte subiectérique de la peau est plus intense. Les conjonctives sont teintées de jaune. L'appétit de l'enfant se modifie. Il refuse le sein. La sage-femme essaie de lui faire prendre de l'eau bouillie, mais sans succès. Cette diète volontaire dure 18 heures. Les selles deviennent plus fréquentes ; on en compte de 4 à 6 dans la journée. Elles sont plus liquides, peu abondantes, d'une coloration jaune foncée, accompagnée d'une émission de gaz inaccoutumée ce qui les rend mousseuses et leur donne l'aspect de la *mousse de bière*. Dans l'intervalle des selles, presque à chaque fois qu'on change l'enfant, on trouve, dans ses langes, une tache vert olive de grandeur variable, au milieu de laquelle on peut voir quelques parcelles de matières solides jaune verdâtre. Il semble que l'émission de ce liquide est accompagnée de coliques, car, à chaque fois, les cris de l'enfant redoublent d'intensité. Les urines sont peu abondantes et forment sur les langes des taches jaune foncée.

Examen des selles : prolifération très nette des *cocci* (modification diarréique habituelle) dans les parties liquides. Dans les grumeaux on trouve des *gros bacilles* à bouts carrés, des *bacilles grêles* et des *coccobacilles en navette*. Seule, cette dernière espèce ne se colore pas par la méthode de Gram. On ensemence avec une parcelle de ces matières un tube de bouillon ordinaire contenant du blanc d'œuf, qu'on ferme à la lampe après y avoir fait le vide, trois tubes de gélose ordinaire inclinés et six tubes de gélose profonde sucrée. Le blanc d'œuf est entièrement digéré le 27 avril.

On isole un gros bacille immobile, sporogène, très pathogène pour le cobaye *Bac. perfringens*, un bacille grêle sporogène immobile, non pathogène, ayant tous les caractères morphologiques et chimiques du *Bac III de Rodella*, un coccobacille naviculaire immobile, non pathogène, ayant les

caractères du *coccobacillus perfrctens* (variété n° 4) et le *Staphylococcus albus*.

Le 30 mars, $p = 3,060$ grammes. L'enfant est de plus en plus affaibli. La teinte de la peau devient jaune safran. On voit apparaître, sur tout le corps et en particulier sur la face, une éruption formée de fines vésicules blanchâtres reposant sur une base érythémateuse. La voix est faible, enrouée. Il n'y a pas de fièvre. Les selles ont le même aspect que la veille et l'examen bactériologique donne les mêmes résultats.

Le 31 mars, $p = 3,040$ grammes. Le poids baisse encore. L'appétit de l'enfant est toujours insignifiant. On essaie de lui faire prendre quelques gouttes de lait, en pressant le sein au-dessus de sa bouche. Cet état de dépression, ces troubles digestifs persistent avec la même intensité les jours suivants. Le 2 avril le cordon se détache.

Le 3 avril, $p = 3,060$ grammes. Il semble que l'enfant prenne un peu mieux le sein.

Pendant les 10 minutes que dure sa tétée, il reste 6 à 8 minutes sans faire de mouvements de succion. La mère est obligée de le secouer légèrement pour l'empêcher de s'endormir. Les selles sont aussi liquides, aussi fréquentes, aussi mousseuses et leur aspect microscopique reste le même.

Le 4 avril, $p = 3,073$ grammes. L'appétit de l'enfant semble un peu meilleur. L'examen bactériologique des selles ne révèle aucune modification de la flore.

Le 5 avril, $p = 3,080$ grammes; le 6 = 3,400 grammes; le 7 = 3,425 grammes; le 8 = 3,200 grammes; le 10 = 3,225 grammes; le 11 = 3,240 grammes; le 12 = 3,250 grammes; le 13 = 3,260 grammes. Pendant ces 7 derniers jours, nous voyons la courbe du poids devenir ascendante mais d'une façon irrégulière : tantôt l'enfant gagne 30, 75 grammes, tantôt 5 ou 10 grammes. L'état général est cependant un peu meilleur. L'enfant crie moins souvent, est moins affaibli. L'appétit est aussi un peu plus régulier. Mais les selles sont aussi fréquentes, toujours mousseuses. Les examens bactériologiques, faits presque tous les jours, montrent que les espèces anormales sont aussi nombreuses.

A partir de cette date, l'amélioration constatée dans ces derniers jours est de plus en plus nette. Il semble que la maladie entre dans sa phase de déclin. Le poids, toujours en dessous du poids de naissance, semble progresser d'une façon plus régulière.

Le 14 avril = 3,280 grammes; le 15 = 3,290 grammes; le 17 = 3,330 grammes; le 18 = 3,360 grammes; le 20 = 3,500 grammes.

C'est donc un mois après la naissance que nous voyons l'enfant récupérer son poids initial. Le 23 avril, $p = 3,630$ grammes; le 26 = 3,725 grammes; le 28 = 3,850 grammes.

L'état général est nettement meilleur. L'enfant ne crie presque plus et ne s'éveille qu'une ou deux fois la nuit. La teinte de la peau est normale. L'éruption a complètement disparu. De temps à autre les conjonctives de l'enfant sont encore jaunes comme s'il se produisait de légères rechutes. A chacune de ces poussées d'ictère correspondent des selles plus fréquentes et plus liquides. L'enfant prend maintenant beaucoup mieux le sein et ne s'endort plus au milieu des tétées.

Les selles, qui jusque-là avaient toujours été liquides, mousseuses et qui verdissaient rapidement au contact de l'air, changent peu à peu d'aspect. Elles deviennent plus consistantes et moins mousseuses. Les examens indiquent une diminution notable dans le nombre des *coccobacilles* et des *bacilles grèles*. Les *gros bacilles*, également moins nombreux, donnent des spores.

Le 29 avril, les matières fécales sont consistantes, moins nombreuses (2 dans la journée) et prennent une coloration jaune d'or. Au microscope on remarque qu'il s'est produit une transformation dans l'aspect de la flore. Les *gros bacilles* ont disparu ainsi, que les *coccobacilles naviculaires*. Il existe encore quelques rares *bacilles grèles*. Mais une autre espèce a pénétré dans le tube digestif et commence à se développer c'est un diplobacille à extrémités effilées, gardant la coloration par la méthode de Gram. Les isollements nous montrent que cette espèce est un anaérobio strict *bac. Bifidus*. A côté de lui on peut isoler quelques rares échantillons de *Bact. coli* (v. commune) et d'*Entérocoque*.

Le 1^{er} mai, le *Bac. bifidus* est devenu prépondérant et semble former à lui seul la flore intestinale.

A partir de cette époque on ne remarque plus chez l'enfant aucun trouble digestif. Les selles sont absolument normales. Le poids remonte rapidement, régulièrement.

Le 30 avril, p = 3,900 grammes; le 1^{er} mai = 4,000 grammes; le 2 = 4,030 grammes; le 3 = 4,050 grammes; le 4 = 4,075 grammes; le 5 = 4,100 grammes; le 6 = 4,150 grammes; le 8 = 4,210 grammes; le 11 = 4,315 grammes; le 18 = 4,430 grammes; le 21 = 4,560 grammes; le 23 = 4,625 grammes; le 28 = 4,725 grammes. Le 1^{er} juin = 4,825 grammes; le 4 = 4,880 grammes, etc... le 20 juin = 5,000 grammes.

Les selles ont conservé leur aspect normal.

OBS. VI. (60). — Jean C..., né à Paris le 11 août 1904, à une heure du matin.

A. H. — Le père, âgé de 35 ans, docteur en médecine, est bien portant. La mère, âgée de 25 ans, est également en bonne santé. Elle se marie au mois de décembre 1903 et, deux à trois mois après, présente les premiers signes de la grossesse. Il ne se produit aucun accident pendant sa durée et l'accouchement, normal, n'est suivi d'aucune complication.

A. P. — L'enfant, né à terme, paraît bien constitué. Il pèse 3,980 grammes.

Dans la journée du 11 août, vers 8 heures du matin, l'expulsion du méconium commence à se produire. On constate que ces selles sont particulièrement abondantes. Pendant les 16 premières heures on ne donne ni lait, ni eau bouillie. Vers 4 heures du soir, la mère donne le sein pour la première fois. Les tétées sont ensuite données d'une façon méthodique, toutes les deux heures et demie le jour, une fois la nuit et pendant 40 minutes.

Dès le 12 ou 13 août, on constate que l'enfant s'alimente mal. Il prend difficilement le sein et s'endort au bout de quelques minutes. On est obligé de le secouer et de lui frotter les joues, avec le doigt, pour le réveiller. La mère semble avoir beaucoup de lait, car l'écoulement en est si abondant qu'on est obligé de recouvrir le sein d'ouate hydrophile,

Le 18 août, on pèse pour la seconde fois l'enfant. $p = 3,725$ grammes. On pèse toutes les tétées. Le 19, la quantité de lait ingéré est de 485 grammes; le 20, de 200 grammes; le 21, de 235 grammes; ce jour-là le poids de l'enfant est de 3,770 grammes, en baisse de 210 grammes sur le poids de naissance. Le 22 août, le poids total des tétées est de 235 grammes; le 23, de 250 grammes; le 24, de 295 grammes; le 25, de 270 grammes. Le nourrisson pèse 3,800 grammes. Le 26, l'ensemble des tétées donne 270 grammes; le 27, 355 grammes; le 28, 395 grammes, $p = 3,840$ grammes. Dans ces dix derniers jours, l'augmentation du poids de l'enfant est en moyenne de 40 à 44 grammes par jour. Le 28 août, coïncidant avec une poussée de lymphangite du sein chez la mère, on voit apparaître des troubles digestifs chez le nourrisson. Après chaque tétée, dès qu'il est remis dans son berceau, l'enfant s'agit, a des alternatives de rougeur et de pâleur, ses pupilles se dilatent, puis finalement a des éructations et des régurgitations. Il rend ainsi tantôt une ou deux gorgées de lait, tantôt tout ce qu'il a pris. Il peut aussi se produire de véritables vomissements de lait caillé, une demi-heure, deux heures même après la tétée. Les selles sont au nombre de 3 à 4 dans la journée; leur coloration est jaune verdâtre. Par exposition à l'air, elles deviennent vert olive. Dans l'intervalle, quand on change l'enfant, on trouve, dans les langes, des taches vertes de la dimension d'une pièce de cinq francs ou de deux francs.

Le 29 août, l'enfant prend dans la journée 335 grammes de lait; le 30, 330 grammes; le 31, 295 grammes; le 1^{er} septembre, 345 grammes; il pèse alors 3,840 grammes. Depuis trois jours le poids est stationnaire. Les vomissements sont de plus en plus fréquents, les selles plus liquides et muqueuses. On en compte de 5 à 6 dans la journée. On voit alors apparaître, sur le visage de l'enfant, une éruption de fines vésicules blanchâtres, du volume d'un grain de mil, qui, localisées d'abord au front, envahissent ensuite toute la face. L'appétit est toujours mauvais. L'enfant ingère, le 2 septembre, 295 grammes de lait; le 3, 400 grammes; le 4, 385 grammes. Il pèse 3,835 grammes.

Le 5 septembre, le poids des tétées atteint 435 grammes; le 7, il n'est que de 350 grammes. Le 8, l'enfant pèse 3,890 grammes. La mère présente à ce moment au sein gauche une poussée de lymphangite semblable à celle du 28 août, localisée alors au sein droit. On décide de mettre l'enfant à la diète hydrique pendant toute la journée du 8. Les 9, 10, 11 septembre, on constate que ce traitement n'a donné aucun résultat. Les troubles digestifs restent les mêmes. Les quantités de lait ingérées sont 440, 460, 380 grammes. Le 11, le poids n'a pas dépassé celui du 8 septembre, il est encore de 3,890 grammes.

Le médecin traitant estime que la sécrétion lactée de la mère est insuffisante, il cherche à la compléter en donnant deux biberons de lait stérilisé du commerce, ce qui fait que le 12 septembre l'enfant prend 495 grammes; le 13, 490 grammes; le 14, 295 grammes seulement. Il pèse à cette date 3,945 grammes. Malgré cette augmentation de poids, l'état général n'est pas meilleur. Les troubles digestifs augmentent. Les vomissements sont incessants et dégagent une odeur de lait sûri. Après les tétées, la gêne et l'agitation qui précèdent ces vomissements sont plus grandes. Les selles prennent une teinte jaune foncé, verdissant rapidement sur les couches, elles sont accompagnées

d'une émission abondante de gaz qui les rend spumeuses et leur donne l'aspect de la mousse de bière. L'enfant crie fréquemment et se déchire la figure avec ses ongles, au point qu'on est forcé de lui envelopper les mains.

Examen bactériologique des selles. — Réaction légèrement acide, odeur de lait sûri. Au microscope : *gros bacilles* rigides à extrémités carrées, *gros bacilles* fusiformes ou à extrémités arrondies possédant des spores à leur partie médiane, *bacilles fins* à extrémités carrées. Ces 3 espèces restent colorées par la méthode de Gram. On voit également de très petits *cocci* disposés en amas et des *coccobacilles* à espace médian clair, tous deux décolorés par cette méthode et des *diplocoques*, des *tetrades* gardant cette dernière coloration. Dans les préparations, les formes dominantes sont incontestablement les coccobacilles et les diplocoques, fait constant dans les diarrhées (*modification diarrhéique habituelle*).

On ense mence avec une parcelle de ces matières, un tube de gélose sucrée profonde à 1000, six tubes de gélose sucrée profonde d'après la méthode de Veillon, 4 tubes de gélose ordinaire inclinée, puis 2 tubes de bouillon ordinaire contenant des cubes de blanc d'œuf et fermés à la lampe après y avoir fait le vide à la trompe.

On constate que dans ces deux derniers tubes, l'albumine a disparu, après un mois d'étuve à 37°.

On isole, des autres milieux, six espèces différentes : *Bac. perfringens*, *Bac. saccharobyticus* de Klecki (variété acétique), *Bac. III de Rodella*, *staphylococcus parvulus* de Veillon et Zuber, espèces anaérobies strictes, puis le *staphylococcus albus* et le *Bac. coli* (v. *communior*), espèces anaérobies facultatives.

A la suite de l'examen microscopique, révélant la présence dans les selles de *bactéries anormales*, on fait les prescriptions suivantes : Suppression du biberon, régularisation des tétées toutes les heures et demi-heure et prise tous les matins d'un verre à liqueur d'une *culture pure de bacillus acidiparalactici*. La mère est mise au régime exclusivement végétarien et prend aux repas de l'eau lactosée à 50 p. 4,000.

Le 15 septembre vers 8 heures du matin, une selle verte avec grumeaux de caséine. Vers 6 heures du soir, une selle jaune foncée et mousseuse. Vers 8 heures du soir, une selle moins mousseuse.

Le 16 septembre, l'enfant prend 405 grammes de lait en 8 tétées. Une selle abondante, mousseuse le matin. Dans la journée on compte 6 taches vert olive dans les langes. Il ne s'est produit que 2 à 3 régurgitations.

Le 17 septembre, poids des tétées, 395 grammes, même nombre de selles. Après chacune des prises de sein, il y a des régurgitations.

Le 18 septembre, p = 3,995 grammes, même nombre et même aspect des selles.

Le 20 septembre, on ne compte que 3 selles qui sont moins liquides et moins mousseuses. L'enfant est toujours abattu. La langue est toujours blanchâtre.

Examen des selles. Réaction plus acide. Les fins cocci sont un peu moins nombreux, les gros bacilles également.

Le 21 septembre, poids des tétées, 470 grammes, 4 selles jaunes non mousseuses, peu abondantes.

Le 22, lait ingéré, 403 grammes, $p = 4,015$ grammes, 6 selles liquides jaunes non mousseuses. Les vomissements et les régurgitations sont encore fréquents. L'enfant est toujours abattu.

Examen des selles, même aspect microscopique que précédemment.

Le 23 septembre, lait ingéré, 465 grammes, 4 selles alternativement mousseuses et glaireuses. L'enfant est moins abattu, moins agité après les tétées, ne vomit presque plus. L'éruption de la face disparaît. La langue est moins blanche,

Le 24 septembre, lait ingéré, 480 grammes, 2 selles jaunes non mousseuses. *Examen des selles*. Réaction plus acide que le 20. septembre. La modification diarrhéique persiste. Les gros bacilles sont disséminés dans les préparations.

Le 25 septembre, lait ingéré, 425 grammes. Poids de l'enfant = 4,020 grammes. Trois selles glaireuses. La première devient légèrement verdâtre par exposition à l'air...

Le 26 septembre, poids des tétées, 460 grammes, 5 selles glaireuses.

Le 27 septembre, poids des tétées, 475 grammes. 2 selles glaireuses et jaunes. La dernière était au début un peu mousseuse.

Le 28 septembre, poids des tétées, 510 grammes. Deux selles. *Examen microscopique*. Les fins cocci décolorés par la méthode de Gram et les gros bacilles fusiformes semblent avoir complètement disparu. Il existe encore des formes bacillaires à extrémités carrées, mais en petit nombre.

Le 29 septembre, poids des tétées, 510 grammes. Poids de l'enfant = 4,060 grammes. Trois selles muqueuses jaunes. La langue est moins blanche.

Le 30 septembre, poids des tétées, 490 grammes, 3 selles de même aspect. La langue est devenue normale.

Le 1er octobre, lait ingéré, 525 grammes. Quatre selles muqueuses jaunes. Dans l'intervalle deux petites taches jaune verdâtre dans les couches. Un seul vomissement dans la journée.

Le 2 octobre, lait ingéré, 533 grammes. Poids de l'enfant = 4,060 grammes. Une selle jaune.

Le 4 octobre, lait ingéré, 470 grammes, 5 selles liquides et mousseuses.

Le 5 octobre, lait ingéré, 495 grammes, 2 selles liquides et mousseuses.

Le 6 octobre, lait ingéré, 525 grammes, 3 selles muqueuses, $p = 4,090$ grammes.

Le 7 octobre, lait ingéré, 550 grammes, 2 selles muqueuses. *Examen des selles*, les gros bacilles sont très rares. Il n'existe plus d'autres espèces anormales.

Le 8 octobre, lait ingéré, 485 grammes, 1 selle. Le 9 octobre, lait ingéré, 510 grammes 1 selle.

Le 10 octobre, lait ingéré, 370 grammes, pas de selles. Le 11 octobre, lait ingéré, 435 grammes, 1 selle obtenue à l'aide d'un suppositoire glycériné. *Examen bactériologique*. Aspect microscopique d'une *selle normale d'un enfant au sein*. La flore intestinale ne semble plus formée que par une seule espèce, que les isolements indiquent être le *Bac. bifidus*. On fait alors cesser tout traitement.

Depuis cette époque, l'enfant semble bien se porter. On ne note plus

aucun trouble digestif. Les selles prennent alors la coloration jaune d'or et la consistance des selles normales. L'appétit devient régulier. Les quantités de lait ingéré augmentent progressivement. La courbe de poids continue à être ascendante. Le 13 octobre = 4.093 grammes : le 16 = 4,445 grammes, le 27 = 4.205 grammes, le 30 4,230 grammes. Nous devons enfin ajouter que dans le courant de novembre, il est rare que l'enfant ait eu des selles spontanées, elles n'ont pu se produire qu'au moyen de suppositoires glycérinés.

Nous avons fait depuis de fréquents examens bactériologiques, ils nous ont toujours montré que la flore avait gardé, depuis le 11 octobre, le même aspect caractéristique.

Actuellement (22 février), l'enfant, âgé de 6 mois et 11 jours, est bien portant, mais il a toujours conservé cette susceptibilité gastrique (cause prédisposante ou conséquence de la maladie) que nous avons observée depuis sa naissance. Au commencement du mois de février, la mère paraissant fatiguée par l'allaitement, nous avons conseillé de donner un peu de lait bouilli coupé d'eau sucrée. Par suite d'une erreur, ce lait a été donné en un seul biberon à la dose de 100 grammes et en remplacement d'une tétée. Il s'est aussitôt produit des vomissements, de l'intolérance gastrique, une inappétence absolue, avec une légère poussée de fièvre : 38°. Le lendemain, les selles étaient décolorées, les conjonctives étaient teintées de jaune et les urines contenaient des matières colorantes biliaires. Les selles ont été examinées. Leur réaction était acide, elles contenaient 60 p. 100 de matières grasses. Mais il ne s'était produit aucune infection intestinale, l'aspect de la flore étant resté normal, sans présenter la moindre réaction diarrhéique. Quelques jours après, d'autres essais ont été tentés avec du lait bouilli coupé du 3/4 ou de la moitié d'eau lactosée, avec du lait maternisé avec du lait de Backaus et ont toujours été suivis de vomissements. Nous avons été dans l'obligation d'avoir recours à une nourrice mercenaire et, depuis, il ne s'est produit aucun accident.

Nous devons, avant de terminer ce mémoire, adresser nos remerciements aux personnes qui ont facilité nos recherches et nous ont aidé à recueillir nos observations. Nous remercions donc en premier lieu le professeur Metchnikoff, à qui nous sommes redevables de nos deux premiers cas, puis le docteur Caboche, le docteur Grisel et enfin le docteur Fosse, qui depuis deux ans applique à Corbeil le traitement des infections intestinales à protéolytiques que nous avons décrit plus haut.

CONTROLE DE LA VALEUR DES VACCINS JENNERIENS

Par la numération des éléments virulents.

PAR M. C. GUERIN

Chef de laboratoire à l'Institut Pasteur de Lille.

Dans un précédent travail (Prophylaxie de la variole dans les pays chauds, Académie de médecine, Commission de vaccine 1903), nous avons montré :

1^o Que la valeur d'un vaccin dépend uniquement du nombre des éléments virulents qu'il contient;

2^o Que le lapin est un animal de choix non seulement pour la régénération des vaccins pauvres, mais encore pour la recherche de la valeur spécifique des échantillons vaccinaux.

Sur ces données, nous avons basé une méthode de contrôle des vaccins jennériens, par la numération des éléments virulents sur les champs vaccinaux, chez le lapin.

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Si l'on ensemence suivant le *modus faciendi* que nous avons indiqué (*Annales de l'Institut Pasteur* 1901) la surface dorsale d'un lapin avec une quantité déterminée de pulpe vaccinale de bonne qualité, on obtient une éruption confluente de pustules, intéressant toute la surface ensemencée.

Si l'on ensemence la surface dorsale de lapins de même poids avec des dilutions de plus en plus grandes de cette même quantité de pulpe glycérinée, on obtient, suivant le taux de la dilution, une levée plus ou moins abondante de pustules isolées dont la numération est facile.

APPLICATION DE LA MÉTHODE

Choix des lapins de contrôle. — Il est important de choisir comme lapins de contrôle des animaux d'un poids moyen de 3 kilos, en excellent état d'entretien; un certain degré d'embonpoint doit être recherché.

La peau, surtout au niveau de la surface dorsale, doit être dépourvue de tout pigment jaune ou noir, et indemne de *nœvis*. Pour la recherche de ces conditions, il suffit à un

garçon de laboratoire un peu expérimenté de souffler légèrement avec la bouche, sur la fourrure, au niveau du dos. Le soulèvement des poils, par l'air insufflé, suffit pour se rendre compte de l'intégrité de la surface cutanée.

En général ce sont les lapins à pelage gris foncé ou noir qui offrent le champ opératoire le plus favorable.

Étendue du champ vaccinal. — Le lapin fixé à plat ventre, sur une table de contention, est rasé sur toute la surface dorsale en prenant soin de ne pas faire de plaies avec le rasoir. Le champ vaccinal affecte la forme d'un trapèze; la base postérieure la plus grande correspondant à la ligne antérieure des *ilia*, la base antérieure étant constituée par la ligne des angles postérieurs des *scapulums*.

Entretien des lapins de contrôle. — Les lapins dont les champs vaccinaux sont ensemencés sont placés isolément dans des cages métalliques préalablement désinfectées. La litière de paille est renouvelée tous les jours.

La nourriture se compose de pain, betteraves ou carottes en petite quantité avec un peu de foin sec.

La température de la salle doit être de 16° à 18°.

Evolution des lésions éruptives. — Dès la 48^e heure après l'ensemencement, si la dilution n'est pas trop faible, les pustules se montrent et présentent l'aspect que nous avons décrit (Vaccine expérimentale, *Annales de l'Institut Pasteur* 1901.) S'il s'agit d'une dilution étendue, les pustules s'aperçoivent nettement vers la fin du 3^e jour.

Dans tous les cas, l'évolution est totale le 5^e jour et l'évaluation de l'échantillon vaccinal est faite à ce moment.

Les lapins, après cet essai, n'ont rien perdu de leur valeur commerciale et peuvent être consommés impunément, comme les génisses vaccinifères.

PROTOCOLE DES ESSAIS DEVANT SERVIR DE TERMES DE COMPARAISON

Des pustules vaccinales entières sont recueillies sur des génisses présentant toutes les qualités requises quant à l'aspect des récoltes. On s'assure par les divers essais en usage (inoculations à la génisse, au lapin, à l'enfant) que ces qualités sont réelles. Après séjour de 40 jours, à basse température, dans leur poids de glycérine stérilisée, ces pustules sont tritü-

réés et additionnées une seconde fois de leur poids de glycérine. La proportion totale de cette dernière est donc de 2 parties pour 1 de pulpe vaccinale.

Avec un tel échantillon, on prépare les dilutions suivantes dans l'eau distillée stérilisée :

1 gr. pulpe vaccinale glycérinée	+	10 c. c. d'eau	dilution au 1/10
1 c. c. de cette dilution glycérinée	+	4 c. c. — — —	au 1/50
1 c. c. — — —	+	9 c. c. — — —	au 1/100
1 c. c. de la dilution au $\frac{1}{100}$	+	4 c. c. — — —	au 1/500
1 c. c. — — —	+	9 c. c. — — —	au 1/1000

Le champ vaccinal des lapins est ensemencé aussitôt après rasage avec 1 c. c. de chacune de ces dilutions préalablement passées à travers une soie très fine.

APPRÉCIATION DES RÉSULTATS

Si l'échantillon de vaccin est d'excellente qualité, l'éruption produite par la dilution au 1/500 est encore absolument confluente. L'éruption déterminée par la dilution au 1/1000 est formée de pustules isolées dont le nombre est de 3 ou 4 par centimètre carré de peau ensemencée.

Des dilutions plus étendues ne donnent qu'un nombre trop restreint de pustules pour que des indications plus précises soient tirées de leur emploi.

Mesure de la virulence des échantillons vaccinaux. — Tout échantillon de vaccin, dont une dilution déterminée provoque sur un champ vaccinal de lapin une levée de pustules isolées dont le nombre est de 3 à 4 par centimètre carré, a une virulence spécifique représentée par le nombre correspondant à cette dilution.

Les nombres exprimant cette valeur sont compris entre 0 et 20. Les termes 0, 5, 10, 15, 20 correspondent aux 5 dilutions qui nous ont servi pour nos essais.

Tout échantillon de vaccin qui n'atteint pas comme valeur le nombre 10 c'est-à-dire dont la dilution à 1/100 ne provoque pas chez le lapin une éruption de 3 à 4 pustules par centimètre carré est un vaccin de qualité médiocre.

Les vaccins cotés au-dessous de 5 doivent être rejetés.

PRATIQUE DE LA MÉTHODE DE CONTROLE

Pour l'évaluation de la valeur spécifique d'un vaccin, il est

inutile de procéder à la série complète des essais dont nous venons de relater les résultats.

Il suffit en effet d'examiner comment se comporte sur le lapin l'échantillon vaccinal dilué au 1/100 ou 1/500 et au 1/1000.

Pour ce faire, 0^{gr}.10 de pulpe glycérinée à contrôler sont dilués dans 10 grammes d'eau distillée et stérilisée.

On part de cette dilution au 1/100 pour faire celles au 1/500 et au 1/1000.

Par mesure de précaution, on vaccine deux lapins avec chacune de ces dilutions.

Nous rappelons que l'appréciation des résultats se fait le 5^e jour après l'ensemencement.

L'évaluation en chiffres de la valeur spécifique de l'échantillon est donnée d'après ces résultats.

CONCLUSIONS

I. — L'évaluation de la valeur spécifique d'un vaccin, par la numération du nombre des éléments virulents qu'il contient, constitue une méthode de contrôle sûre et précise.

II. — Ce contrôle permet une sélection facile des semences destinées à perpétuer les souches vaccinales.

III. — Il serait à désirer que cette méthode fût adoptée dans les Instituts chargés soit de la préparation, soit de la surveillance des vaccins jennériens.

SUR LA NATURE
DES ÉLÉMÉNTS CELLULAIRES DU COLOSTRUM
ET DU LAIT CHEZ LA FEMME

PAR MM.

V. WALLICH

ET

C. LEVADITI

Professeur agrégé à la Faculté
de médecine de Paris.

(Planche XI.)

I

En 1837, un médecin français, Donné¹, a découvert des éléments cellulaires dans le lait des premiers jours qui suivent l'accouchement, alors que ce lait a l'apparence d'un liquide gris, peu consistant (*colostrum*). Ces éléments, examinés par Donné sur des préparations fraîches, ont été appelés par lui *corpuscules du colostrum* et *globules muqueux*. Considérés tantôt comme cellules épithéliales d'origine glandulaire, tantôt envisagés comme des leucocytes, ces corpuscules ont été étudiés par les nombreux auteurs qui ont cherché à se faire une opinion sur leur origine et sur les phénomènes physiologiques dont ils peuvent être l'expression. C'est au cours de ces recherches que l'on a découvert un troisième élément figuré du lait : les *croissants*, mentionnés par Heidenhein, Dogiel et Cohn.

1. DONNÉ, *Du lait et en particulier de celui des nourrices*. Paris, 1837. Nous renvoyons pour les renseignements bibliographiques à la thèse de M^{me} Lourié. Paris, 1900; au travail de Weill et Thévenet, *Archives de médecine des enfants*, 1903; et à la thèse de H. Bab. Berlin, 1905. (*Die Colostrumbildung als physiol Analogon zu Entzündungsvorgängen*.)

Depuis l'emploi des procédés de fixation et de coloration dus à Ehrlich, l'accord s'est fait au sujet de la nature leucocytaire des globules muqueux de Donné. Mais en ce qui concerne les corpuscules du colostrum, il semble difficile, à l'heure actuelle, d'opter pour ceux qui les considèrent comme étant exclusivement des cellules épithéliales, ou pour ceux qui en font toujours des leucocytes. Bien des points restent encore à déterminer au sujet de la nature de ces corpuscules, ainsi que sur le moment de leur apparition et la raison de leur existence dans le lait.

Nos recherches nous ont permis :

1^o *Au point de vue clinique*, de saisir quelques-unes des circonstances qui paraissent correspondre à l'apparition de tels ou tels de ces éléments cellulaires dans le lait;

2^o *Au point de vue anatomique*, de noter ce qui peut s'observer dans les glandes mammaires de femmes mortes pendant la grossesse ou après l'accouchement;

3^o *Au point de vue expérimental*, d'une part, de préciser à l'aide de réactions réalisées avec le sérum des animaux immunisés, la nature des cellules contenues dans le lait qui a été injecté à ces animaux, et d'autre part, d'étudier le mécanisme de la résorption des corpuscules graisseux introduits dans le péritoine des cobayes¹.

II

Les corpuscules du colostrum, après fixation et coloration, ont, d'après M^{le} Lourié (Thèse, Paris, 1900), l'aspect suivant :

« Ce sont des cellules muriformes à protoplasma granuleux, volumineuses, mesurant de 9 à 40 μ . Leur protoplasma est abondant, granuleux et criblé de vacuoles, qui étaient remplies par de la graisse avant l'action de l'alcool-éther. » Le noyau est unique, quelquefois double, exceptionnellement triple; « il se colore par des matières colorantes basiques; il occupe le centre de la cellule, ou est rejeté à la périphérie. Tantôt il est

1. Nos documents anatomiques et la plupart de nos observations cliniques ont été recueillis à la clinique Baudelocque, dans le service de M. le professeur Pinard. Les expériences ont été faites à l'Institut Pasteur, dans le laboratoire de M. Metchnikoff.

sphérique et bien conservé, d'autres fois il est déprimé sur un point de sa circonférence par des gouttelettes de graisse, et suivant que cette dépression est plus ou moins prononcée, on peut observer les différentes formes suivantes du noyau : noyau avec légère encoche, noyau en croissant ou en demi-lune... »

Les leucocytes décrits dans le lait sont des polynucléaires et des lymphocytes. Pour M^{me} Lourié, il s'agit principalement de polynucléaires neutrophiles qui, rares dans le colostrum de la grossesse, se montrent nombreux après l'accouchement, avant que l'enfant ait téte; ils disparaissent vers le 2^e ou le 3^e jour, pour ne reparaître que dans les cas de lymphangite ou de galactophorite, ou lors de la suppression de l'allaitement. Pour MM. Weill et Thévenet, qui ont étudié les éléments figurés du lait après centrifugation, il y a lieu d'établir un véritable *cytopronostic* de la lactation. Suivant ces auteurs, la *polynucléose* annonce une bonne nourrice, tandis que la *mononucléose* fait prévoir une nourrice mauvaise ou médiocre. Les résultats consignés dans sa thèse (Lyon 1903) par M. G. Levy, élève des auteurs précédents, sont intéressants; ils méritent d'être poursuivis et vérifiés sur un grand nombre de cas.

III

Dans nos observations cliniques, nous nous sommes attachés à noter les circonstances dans lesquelles nous faisions nos examens de lait. Ce point a été généralement négligé par les observateurs qui se sont occupé de cette question. Nous avons distingué non seulement la période de sevrage de la période du ralentissement de la lactation, ou de celle du plein allaitement, mais de plus, dans ces différentes périodes, nous avons tenu compte du moment où le lait était recueilli par rapport à la téte. Ces examens ont été faits sur des préparations de lait étalé et séché à l'air, puis fixées les unes à l'alcool-éther, les autres à l'acide chromique et colorées à la thionine, au triacide ou à l'hématine-éosine.

En plein allaitement, chez la bonne nourrice nous avons constaté, comme les auteurs qui nous ont précédé, que le lait

de femme ne présente à côté des globules de lait, d'autres éléments que les corps en croissant. Ceux-ci criblent la préparation; ils sont de volume et de formes divers, affectent constamment le type en croissant et sont comme découpés par des globules de lait. Sur de nombreux points de nos préparations, on peut voir des masses protoplasmiques avec leur noyau dentelé par la pression des globules laiteux. (V. fig. 1.) A un degré plus avancé de dissociation, le croissant est constitué. On peut très bien observer que la matière qui le constitue réagit, en présence des agents colorants, tantôt comme protoplasma seul, tantôt comme chromatine, tantôt à la fois comme chromatine et protoplasma. Ce sont évidemment des débris cellulaires, et il est facile de saisir les étapes de l'éclatement de ces cellules, qui, devant leur dissociation, ne paraissent être autre chose que des corpuscules du colostrum. (V. fig. 2 et 3.)

Dans la période de sevrage, il nous a semblé qu'il y avait lieu de distinguer le moment où la lactation est simplement *ralentie* de celui où cette lactation est *supprimée*¹.

Quand la lactation est *ralentie*, le nombre des tétées réduit, le lait présente des différences d'aspect suivant qu'on le recueille avant ou après la tétée. Avant la tétée, alors qu'il a séjourné longtemps dans le sein, il se montre chargé de corpuscules du colostrum; après la tétée, les corps en croissant dominent dans la préparation. Les leucocytes polynucléaires ou mononucléaires sont rares dans ces circonstances.

Quand l'allaitement est *supprimé*, on constate d'abord l'apparition des corpuscules du colostrum gorgés de globules laiteux; les jours suivants ces corpuscules se flétrissent, prennent un aspect flasque qui contraste avec l'apparence rebondie qu'ils avaient les premiers jours. Ils prennent moins bien les agents colorants et se font de plus en plus rares dans les préparations. A ce moment les polynucléaires neutrophiles sont très nombreux et coexistent avec un certain nombre d'éléments mononucléaires, lymphocytes ou cellules épithéliales desquamées.

Dans la période qui précède la montée laiteuse, on note l'ap-

1. Dans un cas observé par l'un de nous (V. WALICH, *Les leucocytes dans le lait*, Rapport présenté au congrès d'obstétrique, de gynécologie et de pédiatrie de Rouen, 1904), il a été possible de surprendre, par les examens histologiques du lait, la supercherie d'une nourrice qui donnait en cachette des tétées supplémentaires à un nourrisson qu'on voulait sevrer.

parition de corpuscules du colostrum peu nombreux; mais ceux-ci sont gonflés, bien vivants, bien colorés. Les polynucléaires et les mononucléaires se montrent également dans le lait, mais ils sont en moins grand nombre que lors de la cessation de l'allaitement; ils disparaissent après la montée laiteuse, si la lactation est bien établie.

Il résulte donc de nos observations que les corpuscules du colostrum apparaissent chaque fois que la sécrétion est *lente* ou *ralentie*, conditions réalisées pendant la grossesse et les deux ou trois premiers jours qui suivent l'accouchement, ou bien dans la période de sevrage, lorsqu'on diminue le nombre des tétées.

L'accumulation de polynucléaires paraît plutôt correspondre à la rétention du lait dans le sein et témoigne des phénomènes irritatifs qui accompagnent cette rétention au moment de la fluxion mammaire réalisée par la montée laiteuse ou par la suspension de l'allaitement. Mais par l'examen exclusif du lait, il ne nous est pas possible de déterminer, comme l'ont fait beaucoup d'auteurs, la nature des corpuscules du colostrum: leucocytaire pour les uns, épithéliale pour les autres. Ces corpuscules sont le plus souvent à un seul noyau, ce qui ne veut pas dire qu'ils soient uniquement formés par des lymphocytes ou de gros mononucléaires. Ils sont même, quand ils ont plusieurs noyaux, à distinguer des polynucléaires par leur configuration, leurs dimensions et la forme de ces noyaux. Il est vrai que ces polynucléaires peuvent phagocytter des globules de lait, comme nous en avons représentés dans la figure 4, mais dans ce cas leur aspect est différent de celui des corpuscules du colostrum proprement dits. (V. fig. 3.)

En somme, ces corpuscules du colostrum sont des cellules dont l'origine reste à déterminer. Voyons si l'examen direct de la glande mammaire peut nous renseigner sur ces différents points.

1. Nous avions déjà écrit ces conclusions, quand nous avons eu connaissance du travail de BAB (déjà cité), qui rapproche les phénomènes qui accompagnent la formation du colostrum des processus inflammatoires.

IV

Nous avons recueilli et étudié sept glandes mammaires provenant de femmes ou de nouveau-nés.

Glandes mammaires de femmes. — Nos examens ont porté sur cinq cas dont voici l'histoire résumée :

I. — Lad..., âgée de 30 ans, morte d'asystolie 2 jours après l'interruption artificielle et thérapeutique de la 3^e grossesse au 6^e mois. Cette femme n'avait jamais allaité. Sa 1^{re} grossesse s'était terminée à 5 mois par un avortement; la 2^e, à 7 mois, par un accouchement prématué.

II. — Wid..., 34 ans, morte de rupture utérine 3 heures après son 4^e accouchement, terminé par la naissance d'un enfant de 3.200 grammes. Cette femme avait eu 3 accouchements antérieurs à terme et avait allaité ses trois premiers enfants.

III. — A..., morte de rupture utérine 3 jours après un accouchement à terme, terminé par une basiotripsie.

Ces 3 femmes n'ont pas allaité. Les deux femmes suivantes ont nourri leurs enfants.

IV. — Let..., 19 ans, morte d'infection 7 jours après son accouchement à terme de sa 2^e grossesse.

V. — Lec..., 22 ans, a nourri pendant 4 jours son enfant né à terme; morte de broncho-pneumonie, 9 jours après son accouchement.

Il y a à retenir que les glandes mammaires de ces deux dernières femmes avaient cessé de fonctionner depuis quelques jours au moment de la mort.

Dans les quatre cas d'accouchement à terme que nous avons examiné, nous avons décelé autour des acini une accumulation de cellules mononucléaires et parfois de polynucléaires, ces dernières en moindre quantité. Cette accumulation cellulaire est plus accentuée dans les glandes des femmes qui ont allaité et cessé l'allaitement (obs. IV et V); elle est au contraire très peu marquée chez les femmes mortes à une date plus rapprochée de l'accouchement (3 heures et 3 jours après), et qui n'ont pas allaité (obs. II et III).

De quoi est composée cette réaction cellulaire?

L'élément mésodermique y entre en jeu d'une façon certaine, qu'il s'agisse de leucocytes d'origine sanguine, ou de cellules fixes mobilisées par une réaction quasi-inflammatoire. On voit certaines de ces cellules très rapprochées de la paroi glandulaire, d'autres s'insinuant entre les éléments épithéliaux et figurant une véritable diapédèse. Mais cet élément mésoder-

mique est-il seul à concourir à la formation des cellules que l'on trouve dans la lumière des acini ou des canaux ? A cette question nous pouvons répondre *qu'on voit parfois, à l'intérieur des glandes ou des canaux galactophores, de véritables corpuscules du colostrum qui offrent en certains points une similitude absolue avec les cellules épithéliales pariétales.* (V. fig. 6.)

En somme, par l'examen de préparations provenant de femmes accouchées, nous arrivons à préciser la nature épithéliale et desquamative d'un certain nombre de corpuscules du colostrum, mais il ne nous permet que de *supposer* l'origine mésodermique d'un certain nombre de ces corpuscules. Cette origine mésodermique est mise en évidence d'une façon plus nette par nos préparations provenant du nouveau-né.

Glandes mammaires de nouveau-né. — Ces glandes proviennent de deux nouveau-nés, l'un mort pendant le travail, l'autre quelques jours après sa naissance, alors qu'il présentait la fluxion mammaire si souvent constatée dans les premiers jours de la vie.

Observation I. — Fœtus mort pendant le travail.

A un faible grossissement on constate un développement acineux moins accentué que chez la femme. Les canaux excréteurs sont, les uns agrandis, les autres plissés. Il y a une dilatation vasculaire très accentuée ; les vaisseaux ont les parois très minces et n'offrent pas de réaction inflammatoire. Par contre, on trouve autour des acini et des canaux excréteurs une assez grande accumulation de cellules.

A un plus fort grossissement, on constate dans la lumière des canaux excréteurs, des cellules pariétales desquamées ayant conservé leur forme, des débris protoplasmiques ou nucléaires, et en certains points, de gros corpuscules du colostrum dont les granulations ne sont pas colorées par l'acide osmique. On trouve également à l'intérieur de ces canaux de grosses cellules mononucléaires à noyau plat, vésiculeux, à réseau lâche de chromatine. Ces dernières cellules ont la même apparence que celles qui tapissent la paroi du canal. Certaines de ces cellules desquamées possèdent des noyaux flétris et plus colorés que ceux des cellules de la paroi. Elles renferment de fines gouttelettes graisseuses et des granulations plus grosses, ayant un volume triple de celui d'un globule rouge.

Dans les cellules pariétales on trouve des globules graisseux, surtout vers le pôle de la cellule qui regarde la lumière du canal.

Contre la paroi des canaux excréteurs ou en plein tissu conjonctif péri-glandulaire, on trouve un assez grand nombre de polynucléaires pleins de granulations graisseuses (V. fig. 5). Cette réaction périglandulaire n'est pas uniquement constituée par des polynucléaires, mais aussi par des lymphocytes

et de gros leucocytes mononucléaires (macrophages). Ça et là, mais rarement, on trouve une cellule basophile (Mastzellen).

Dans la lumière des vaisseaux sanguins on trouve beaucoup de lymphocytes et de polynucléaires, ces derniers renfermant des granulations graisseuses. Dans le tissu conjonctif il y a de grosses cellules mononucléaires avec un noyau vésiculeux, irrégulier, quelquefois double; ces cellules renferment des corpuscules de graisse.

Notons enfin que les préparations faites avec le colostrum de ce nouveau-né présentent de nombreux corpuscules du colostrum.

En résumé, on constate dans ce cas une réaction cellulaire périglandulaire très accentuée. Cette réaction est constituée par des lymphocytes et par des éléments mononucléaires mésodermiques d'origine non déterminée. C'est la présence de granulations graisseuses dans les polynucléaires et dans les mononucléaires qu'il faut retenir.

Observation II. — Coupes de glandes en pleine fluxion mammaire chez le nouveau-né.

Les canaux excréteurs sont très dilatés et renferment une masse jaunâtre contenant des éléments cellulaires assez rares. Ces éléments sont, pour la plupart, des mononucléaires à noyau pâle et à protoplasma développé, finement vacuolé, comme celui des corpuscules du colostrum. Ça et là on trouve des polynucléaires dans la lumière des canaux, mais plus rares que les mononucléaires.

Dans le tissu conjonctif on remarque de la dilatation vasculaire. Dans certains canaux glandulaires très dilatés, on distingue des globules rouges. Il y a donc en certains points des hémorragies, provenant sans doute de la rupture de quelques capillaires pariétaux, analogues aux *rasa rassorum*. Cette hémorragie est limitée aux canaux excréteurs.

On constate autour des acini une réaction inflammatoire lymphocytaire et polynucléaire (V. fig. 7 et 8). Les leucocytes polynucléaires touchent la paroi glandulaire et quelquefois pénètrent à travers la couche cellulaire épithéliale qui tapisse cette paroi.

En résumé, nous avons pu faire ici des constatations analogues à celles que nous avons enregistrées dans le cas précédent; nous avons noté, en plus, les phénomènes congestifs et même hémorragiques correspondant à la fluxion mammaire.

Voici les conclusions générales que l'on peut formuler d'après l'examen de nos préparations de glandes mammaires chez la femme et chez le nouveau-né :

a) L'histologie de la glande mammaire nous montre une origine double des corpuscules du colostrum : épithéliale des-

quamative d'une part, et mésodermique¹ inflammatoire d'autre part ;

b) Nous avons constaté la présence de grains graisseux dans un certain nombre de cellules polynucléaires et mononucléaires. Ceci permet de penser que cette graisse incluse dans le protoplasma provient de l'acte de résorption que ces cellules réalisent dans le tissu glandulaire².

V

Pour préciser d'une façon définitive l'origine mésodermique ou épithéliale des corpuscules du colostrum, à l'exemple de Czerny et d'autres, nous nous sommes adressés à l'expérimentation.

a) Nous avons injecté, dans le péritoine des cobayes, une émulsion de jaune d'œuf (expérience faite en commun avec M. Kraus de Vienne) et du lait de femme. Ces expériences nous ont montré que le processus de résorption est réalisé, dans ce cas surtout, par des éléments cellulaires et qu'il rappelle celui qui préside à la résorption des globules rouges, introduits dans la cavité péritonéale.

Ainsi, après une première période de courte durée, pendant laquelle les polynucléaires font invasion dans le péritoine et résorbent une partie des particules injectées, les macrophages apparaissent en grand nombre. Ils absorbent, dans l'espace de 12 à 24 heures qui suit l'injection, une grande quantité de globules de lait ou de jaune d'œuf, et englobent en même temps un certain nombre de polynucléaires. Si, à ce moment, on fait une préparation de l'exsudat péritonéal et qu'on ait soin de la colorer soit avec le triacide, soit avec le mélange de Giemsa (V. fig. 9, 10, 11), on obtient des images qui peuvent être superposées à

1. Nous employons le terme *mésodermique* pour ne rien présumer quant à la nature des cellules qui constituent cette réaction inflammatoire. En effet, si pour un certain nombre de ces cellules, en particulier les polynucléaires granulés, nous pouvons affirmer l'origine sanguine, les mononucléaires peuvent aussi provenir de la multiplication et de la mobilisation des cellules fixes.

2. On peut se demander si cette graisse n'est pas le résultat d'une dégénérescence cellulaire. Nous ne le pensons pas, étant donné que l'état histologique de ces cellules permet de constater leur intégrité morphologique.

celles qui représentent les corpuscules du colostrum. On constate le boursouflement de la cellule, la compression exercée sur le noyau par les particules phagocytées et l'aspect déchiqueté, découpé, que l'on rencontre si souvent dans les corpuscules du colostrum¹.

Ces expériences prouvent que *des cellules d'origine sûrement mésodermique, telles les macrophages du péritoine du cobaye peuvent, après avoir englobé du lait, prendre l'apparence des éléments mononucléaires du colostrum.* C'est là un argument en faveur de l'origine mésodermique d'une partie des corpuscules du colostrum².

b) Nous avons injecté, dans le tissu cellulaire sous-cutané d'une série de lapins et à plusieurs reprises, de 8 à 10 c.c. de lait de femme; au bout de deux semaines nous avons saigné partiellement deux de ces lapins, ainsi qu'un lapin témoin et nous avons recherché l'action du sérum sur les éléments du colostrum provenant de nouvelles accouchées, d'une part, et d'autre part, sur les leucocytes du sang de l'homme.

Nous donnons ici un tableau résumant nos constatations :

Sérum.	Colostrum.	Eau salée Isot.	RÉSULTAT	
			Immun-sérum	Sérum normal.
8 gouttes	4 gouttes	0	Corpuscules de colostrum libres. Beaucoup d'amas.	Moins d'amas.
5 gouttes	4 gouttes	3 gouttes	Agglutination forte. Gros amas.	Agglutinat. presque nulle.
1 goutte	4 gouttes	7 gouttes	Agglutination forte.	Trace d'agglutinat.
0	4 gouttes	8 gouttes	Tracé d'agglutination.	

1. Leur ressemblance est si grande que chacun d'entre nous ayant figuré d'après des préparations, d'une part une cellule colostrale et d'autre part un macrophage péritonéal, on a obtenu deux images qui semblent être calquées l'une sur l'autre. (Voir fig. 11 et 13.)

2. Nous n'avons jamais pu constater la désagrégation des macrophages péritonaux, ni leur transformation en corps en croissants.

Une expérience analogue, faite avec du sang humain en remplacement du colostrum, a montré que pour les quantités employées par nous, il n'y avait, en dehors de l'hémolyse, aucune action de l'immun-sérum sur les leucocytes.

Cette expérience (répétée deux fois avec le même résultat) prouve que *le lacto-sérum agglutine une partie des éléments cellulaires contenus dans le colostrum, cependant qu'il n'influence nullement, à la dose employée par nous, les leucocytes du sang.*

Quelle interprétation convient-il de donner à ces faits?

On sait depuis les recherches de Bordet¹ et surtout de von Dungern², que l'injection de lait fait apparaître, dans le sérum des animaux immunisés, des propriétés épithéliotoxiques manifestes. C'est ainsi que von Dungern, en particulier, arriva à immobiliser le mouvement des cils vibratils des cellules trachéales chez le bœuf, en mettant ces cellules en contact avec le sérum fourni par des lapins qui ont reçu du lait en injection sous-cutanée. Cette propriété du lacto-sérum peut donc, dans une certaine mesure, et tout en tenant compte de la spécificité relative des immun-sérum, servir à diagnostiquer l'origine épithéliale d'un élément cellulaire donné. Il s'agirait là d'un diagnostic de l'espèce cellulaire, se faisant comme le diagnostic de l'espèce bactérienne, au moyen d'un sérum spécifique déterminé d'avance.

C'est en mettant en œuvre ce procédé que nous avons pu faire apparaître la nature épithéliale d'une partie des éléments du colostrum. Nous venons de voir, en effet, que certains de ses éléments, à l'encontre des leucocytes, se sont laissé influencer par notre sérum épithéliotoxique. Il y a donc une analogie frappante entre nos résultats et ceux de von Dungern, lequel s'est servi des propriétés épithéliotoxiques du sérum provenant d'animaux injectés avec du lait, pour démontrer que ce lait résulte d'une fonte des éléments épithéliaux de la glande mammaire.

1. BORDET, *Ces Annales*, 1900.

2. VON DUNGERN, *Münchener med. Woch.* 1899.

CONCLUSIONS

L'étude morphologique et expérimentale à laquelle nous avons soumis la question de l'origine des cellules du colostrum et du lait chez la femme, nous permet de formuler les conclusions suivantes :

1^o L'examen des nombreuses préparations de lait de femme nous a montré que plusieurs éléments cellulaires différents apparaissent suivant les circonstances, dans ce lait.

Les leucocytes mononucléaires et surtout polynucléaires se montrent en grand nombre lorsqu'il y a arrêt définitif de la lactation. Ceci fait déjà penser au *rôle d'agent de résorption qu'il convient d'attribuer à ces leucocytes*.

Nous avons vu prédominer dans le lait les grosses cellules décrites sous le nom de corpuscules du colostrum, dans les cas où la lactation était moins active ou ralentie. Par contre, lors du plein fonctionnement de la glande, nous avons noté la présence seule des débris cellulaires, dits corps en croissant.

Ces examens de lait ne laissent donc aucun doute sur l'identité des leucocytes qu'on peut y renconfrer, mais ne nous renseignent guère sur l'origine des corpuscules du colostrum, regardés suivant les auteurs, soit comme des leucocytes, soit comme des cellules épithéliales ayant subi des transformations ;

2^o Nos recherches histologiques, concernant les glandes mammaires de femmes et de nouveau-nés, nous ont permis, d'une part, de suivre les leucocytes poly et mononucléaires se groupant autour des acini, ou s'insinuant à travers l'épithélium glandulaire pour venir s'y gorger de globules laiteux. D'autre part, nous avons pu noter une identité morphologique entre les cellules glandulaires et certains corpuscules du colostrum observés dans la lumière des acini et des canaux excréteurs ;

3^o Nos expériences faites au moyen des sérums provenant d'animaux injectés avec du lait ont précisé la nature épithéliale de certains corpuscules du colostrum.

Ces corpuscules du colostrum ont donc une origine variée

ble : tantôt épithéliale, comme nous venons de le voir, et tantôt mésodermique.

Nous avons pu en effet, par des injections de lait dans la cavité péritonéale des cobayes, constater que les cellules mésodermiques, les macrophages du péritoine, ayant englobé des globules laiteux, peuvent prendre l'apparence des corpuscules du colostrum.

Légendes de la planche XI

Fig. 1. — Croissants.

Fig. 2. — Corpuscules de colostrum en voie d'éclatement (n, noyau; g, globule laiteux).

Fig. 3. — Corpuscule de colostrum boursouflé, avec noyau déformé par les globules laiteux (n, noyau; g, globules laiteux intracellulaires; g', globules laiteux libres).

Fig. 4. — Leucocyte polynucléaire ayant englobé des particules laiteuses (n, noyau; l, granulat neutrophiles; g, globules laiteux; g', globules laiteux libres).

Fig. 5. — Coupe de glande mammaire de nouveau-né, observation I. Flemming, thionine : l' l' l', polynucléaires avec des grains graisseux dans leur protoplasma; c, cellule glandulaire; po, polynucléaire s'infiltrant à travers les épith. glandulaires; g, globules graisseux; lu, lumière de l'acinus; n, noyau libre.

Fig. 6. — Deux corpuscules de colostrum (en plein canal glandulaire chez la femme).

Fig. 7. — Coupe de glande mammaire de nouveau-né, observation II (faible grossissement, Van Gieson). c, tissu conjonctif; g, acini; n, corpuscule de colostrum; v, vaisseau; l, réaction cellulaire autour des acini.

Fig. 8. — Même coupe, grossissement plus fort (immersion Zeiss). n, lumière de l'acinus; g, cellules glandulaires; l, cellules mononucléaires dans un espace lymphatique (vl); l' l", macrophage en voie de pénétration à travers l'épithélium glandulaire; v, vaisseau; p, leucocyte polynucléaire; m, paroi de l'acinus; m' cellule fixe.

Fig. 9, 10 et 11. — *Macrophages du péritoine du cobaye*, ayant englobé des globules graisseux.

Fig. 12. — *Leucocyte pseudo-éosinophile* du même péritoine.

Fig. 13. — *Corpuscule de colostrum* (à comparer avec la figure 11).

Fig. 14. — *Corpuscule de colostrum*, en train d'englober un polynucléaire neutrophile (*l*) ; *g*, globules de lait, *l*, leucocyte polynucléaire.

Essai d'immunisation par la voie gastro-intestinale

CONTRE LA TOXINE BOTULIQUE

PAR LE DR A. TCHITCHKINE

(Laboratoire de M. Metchnikoff.)

Il est admis aujourd'hui que les toxines les plus actives par la voie sous-cutanée, celles de la diphtérie et du tétanos, sont tout à fait inoffensives et non immunisantes si on les introduit dans le tube gastro-intestinal.

Les travaux de Gibier, de Charrin et de ses collaborateurs, de Ransom, Nencki, Carrière, etc., ont éclairci la cause de cette immunité. Selon Ransom elle vient de ce que le poison (toxine tétanique) n'est pas absorbé ni détruit, mais suit sans changement tout le canal et est rejeté par l'anus.

Cette opinion est restée isolée, tous les autres savants ont démontré l'absence de poison dans les excréments et s'accordent à dire que la toxine est détruite dans l'intestin. A cette destruction concourent certainement trois facteurs : les fermentations digestives, la muqueuse elle-même et enfin les microbes qui pullulent dans le tube.

Ne traversant pas les parois du tube intestinal et y étant totalement détruits, ces poisons, comme on pourrait le supposer *a priori*, ne doivent pas former d'anticorps. En effet, les expériences de Gibier et de Carrière ont démontré que l'ingestion des toxines ne produit pas l'immunité et ne donne pas de propriétés antitoxiques au sérum.

Il en est ainsi des toxines diphtérique et tétanique.

En 1897, van Ermengem a décrit un nouveau microorganisme anaérobiose qu'il présente comme l'agent d'une maladie aiguë bien connue, rentrant dans le groupe des empoisonnements par la viande, et qui s'appelle *botulisme*.

Ce *bacillus botulinus* est, d'après van Ermengem, un véritable saprophyte, puisqu'il n'est pas capable de se multiplier dans

l'intestin ou dans les tissus; il provoque des phénomènes d'intoxication grâce au principe toxique qui se trouve dans son protoplasma et dans les substrata morts où il se développe. Cette toxine est caractérisée par sa nocivité extrême, et, à l'encontre des autres toxines, par son pouvoir de causer de graves phénomènes d'intoxication quand on l'introduit dans le canal gastro-intestinal. Comme l'ont démontré Marinesco, Kempner et Pollack, elle agit sur le système nerveux et principalement sur les cellules des cornes antérieures de la moelle épinière. L'aspect de ces cellules se modifie complètement et elles parviennent, chez des animaux à l'état d'empoisonnement aigu, jusqu'au stade de chromatolyse presque complet et de destruction; les corpuscules de Nissl sont transformés en des masses poussiéreuses.

Poursuivant l'étude de ce poison, Kempner et Schepilewski ont trouvé que la substance du système nerveux central est capable de fixer une quantité considérable de cette toxine. La même propriété appartient aussi à quelques simples corps chimiques, tels que la lécithine, la cholestérol, la bile et à un degré moindre l'antipyrine. Mais, en même temps que la substance nerveuse est capable de préserver l'animal de l'effet du poison et même à un certain degré de le guérir, la propriété fixative de ces produits chimiques se manifeste uniquement *in vitro*.

Au point de vue chimique, le poison a été étudié de près par Brieger et Kempner, qui en ont précipité le principe actif, et ont démontré qu'il appartient au groupe des toxalbumines, comme les toxines diphtérique et tétanique¹.

Quelque temps après la découverte de cette toxine, Kempner se proposa d'immuniser des animaux contre elle. Ses expériences par injections sous-cutanées, sur des cobayes et des lapins, n'ont pas été couronnées de succès. Il lui fut impossible d'obtenir l'immunité active, même en commençant par des doses minimes; après un temps plus ou moins long, les animaux mouraient en présentant des symptômes de cachexie. Par contre, l'essai tenté sur des chèvres produisit de meilleurs résultats. Les chèvres immunisées donnèrent un sérum possédant de très hautes propriétés préventives; bien plus, ce sérum

1. Nous ne voulons pas entrer relativement à cette conception dans une discussion qui excéderait les limites de notre travail.

injecté à dose mortelle, même 24 heures après l'intoxication, fut capable de guérir un cobaye déjà très malade.

L'antitoxine du botulisme a été au surplus l'objet des études de Forssman et Lundstrom, qui ont donné la courbe de sa production et la placent, à cet égard, entre l'antitoxine diphtérique et l'antitoxine tétanique. Madsen a récemment étudié des relations quantitatives entre la toxine et l'antitoxine du botulisme et a constaté un fait paradoxal, observé du reste sur d'autres substances, l'absence de proportionnalité directe entre la masse et l'effet du poison.

Nous voyons ainsi que le bacille du botulisme lui-même, dont l'existence a été confirmée par quelques chercheurs ultérieurs, par exemple Römer, comme sa toxine et son antitoxine, ont été l'objet d'études différentes.

Kempner¹ a réussi à isoler, dans des excréments de porc, un microorganisme dont les propriétés sont identiques à celui qu'a décrit van Ermengem; cette observation a permis à Schneidemühl d'émettre la supposition que la maladie, dite paralysie puerpérale (*Geburtsparalyse*) des bovidés, est sans doute causée par un organisme spécifique semblable ou peu différent, puisque les phénomènes cliniques de cette maladie ont une grande ressemblance avec les symptômes du botulisme.

De toutes les propriétés et particularités de la toxine botulique énumérées ci-dessus, une seule nous intéresse en ce moment : son pouvoir particulier de produire un effet toxique par l'intestin.

Aussi avons-nous essayé d'immuniser, par cette voie, des animaux contre cette toxine.

L'heureuse tentative d'Ehrlich avec des poisons d'origine végétale (ricine et abrine), nous donnait quelque espérance de succès.

Comme nous nous proposons de trancher la question seulement pour le principe, nous avons choisi de petits animaux de laboratoire, des lapins.

Nous faisions prendre à des lapins le bouillon contenant la toxine, au moyen d'une seringue, en introduisant l'embout de cette dernière dans la bouche.

A l'exception de quelques-uns, les lapins avaient très volontiers le liquide ainsi administré, surtout en prenant soin

1. D'après Schneidemühl.

de ne leur donner, quelque temps avant l'opération, qu'une nourriture sèche.

La culture du botulisme qui servait pour nos expériences provenait de la collection de l'Institut Pasteur¹.

Nous préparions la toxine de la façon suivante : le bouillon de porc (500 grammes de viande de porc pour 1 litre d'eau, auquel on ajoute 1 0/0 de peptone, 1 0/0 de glucose et 1/2 0/0 de sel) était distribué dans des ballons à long col; dans chaque ballon on introduit un peu de carbonate de chaux pur qui, bien entendu, se précipite au fond, puis on verse sur la surface une petite couche de vaseline liquide, on bouche avec de la ouate et enfin on stérilise le tout dans l'autoclave à 100° pendant une demi-heure, 3 fois, à 24 heures d'intervalle. Dans des ballons ainsi préparés et refroidis, on ensemence le bacille et on laisse à une température d'environ 20° pendant 2-3-4 semaines; après quoi on filtre sur bougie Chamberland.

La toxine obtenue de cette façon tuait un cobaye de 300 à 500 grammes à la dose moyenne de 0 c.c. 001 sous la peau (certaines toxines étaient plus faibles — 0 c.c. 01, d'autres — plus fortes — 0 c.c. 0001 et même 0 c.c. 00005).

Pour le lapin, par injection sous-cutanée, la dose mortelle était en moyenne 0 c.c. 001 (quelquefois 0 c.c. 0001.)

Pour tuer un lapin avec de la toxine introduite par la bouche, il faut des doses beaucoup plus fortes : en moyenne environ 5 c.c. (rarement 10 c.c.) parfois seulement 3 c.c. Comme on le voit, si on compare avec les doses mortelles sous-cutanées, il faut alors des quantités énormes de poison.

Dans nos expériences d'immunisation par l'intestin, nous commençons d'ordinaire avec de petites doses, que nous augmentons peu à peu. Disons tout de suite que ces expériences présentaient des difficultés considérables. Celles-ci peuvent être divisées en deux catégories. Premièrement, des difficultés d'ordre général venant de ce qu'il n'est pas facile de conserver les lapins durant une assez longue période de temps. La moitié, sinon davantage, est contaminée par quelque infection étrangère et périt avant qu'on ait pu obtenir quelques résultats. Deuxièmement, des difficultés dépendant de la très grande sensibilité des lapins relativement à la toxine botulique.

1. L'Institut l'avait reçue de van Ermengem.

Ce que nous venons de dire explique que, sur 120 lapins que nous avons employés pour les présentes expériences, un petit nombre seulement nous ait donné des résultats positifs.

Comme nous l'avons déjà mentionné, nous commençons d'ordinaire par de petites doses non mortelles, prenant soit une toxine faible (dose mortelle pour le cobaye : 0 c. c. 04), ou une toxine primitivement forte, mais affaiblie par le temps.

Puis, suivant les règles générales de l'immunisation, nous augmentâmes la dose à des intervalles de 8-10-14 jours.

De nombreuses expériences nous ont appris qu'il faut à cet égard une grande prudence dans les premiers temps de l'immunisation, tant que l'animal n'a pas acquis une certaine résistance. Celle-ci apparaît très lentement et, en général, à un faible degré. Toutefois, après un certain temps, le lapin devient moins sensible vis-à-vis du poison, et supporte sans danger la dose mortelle et même une dose plus élevée.

Voici à cet égard quelques chiffres :

Lapin 21.

1904	Avril	6.	Poids	2970	a reçu	5	c. c. de la toxine	II (0,004) ⁴ .
	—	11.	—	2900	—	7	—	—
Mai	13.	—	2960	—	5	—	—	—
—	19.	—	2950	—	8	—	—	V (0,004).
—	25.	—	2940	—	15	—	—	VII (0,04).
Juin	8.	—	2770	—	saignée d'essai.			

Le lapin a vécu encore 1 mois; mort d'une cause étrangère.

Lapin 27.

1904	Avril	21.	Poids	1760	a reçu	3	c. c. de la toxine	II (0,004).
Mai	13.	—	2325	—	5	—	—	—
—	19.	—	2250	—	5	—	—	V (0,004).

Le lapin a vécu encore 19 jours; mort d'une cause étrangère.

Lapin 31.

1904	Avril	21.	Poids	2230	a reçu	3	c. c. de la toxine	II (0,004).
Mai	13.	—	2380	—	5	—	—	—
—	19.	—	2420	—	5	—	—	V (0,004).

⁴ Le nombre en chiffres romains indique les différentes toxines préparées au cours de nos longues expériences. Le nombre entre parenthèses qui est à côté donne la dose de cette toxine qui est mortelle pour le cobaye.

Le lapin a vécu encore 18 jours; mort d'une infection étrangère.

Lapin 32.

1904 Avril 21. Poids 2195 a reçu 5 c. c. de la toxine II (0,001).

Mai 13. —	2195	—	40	—	—	—
— 19. —	2320	—	15	—	—	V (0,001).

Le lapin a vécu encore 16 jours; mort d'une infection étrangère.

Lapin 35.

1904 Mai 19. Poids 3180 a reçu 2 c. c. de la toxine V (0,001).

— 25. —	3215	—	6	—	—	VII.
---------	------	---	---	---	---	------

Juin 1er. —	3045	—	5	—	—	—
-------------	------	---	---	---	---	---

— 8. —	3290	—	10	—	—	V (0,001).
--------	------	---	----	---	---	------------

Le lapin a continué de vivre 24 jours; il recevait encore des doses élevées de la toxine et les supportait très bien; mort à la suite d'une très forte dose, qui fut donnée trop tôt après la dernière ingestion.

Les 5 lapins mentionnés ont, comme on le voit, très bien supporté les doses de 5 c. c., 8 c. c., 10 c. c. et 15 c. c. de la toxine V, tandis que les lapins témoins, comme le montre le tableau ci-dessous, ont péri dans le plus bref délai (2-3 jours).

Lapins témoins

Nº 49.

1904 Juin 9. Poids 1700 a reçu 3 c. c. de la toxine V (0,001).

— 12. —	1340	mort.
---------	------	-------

Nº 36.

Mai 19. Poids 2525 a reçu 5 c. c. de la toxine V (0,001).

— 22. —	2250	mort.
---------	------	-------

Nº 37.

Mai 19. Poids 2570 a reçu 10 c. c. de la toxine V (0,001).

— 24. —	2420	mort.
---------	------	-------

Nº 38.

Mai 19. Poids 2400 a reçu 15 c. c. de la toxine V (0,001).

— 21. —	2235	mort.
---------	------	-------

Ces lapins témoins ont succombé en présentant les symptômes du botulisme tels que les a décrits van Ermengem, c'est-à-dire : perte de l'appétit, diminution du poids, immobilité,

affaissement de la musculature, rétention de l'urine et parfois écoulement d'un liquide clair, du nez et de la bouche. Par la suite, la situation empirant, l'animal se couche sur le ventre en allongeant le cou et en étendant les extrémités, enfin la tête tombe de côté, et bientôt il meurt paralysé.

L'autopsie révèle l'hypérémie de l'intestin, le gonflement de la vessie et parfois la congestion plus ou moins prononcée des poumons.

Il va sans dire que tous nos animaux, tant ceux dont nous venons de parler que ceux dont nous parlerons plus loin, ont toujours été examinés au point de vue bactériologique, et si nous ne le mentionnons pas dans chaque cas, c'est que nous n'avons rien trouvé qui fût digne d'attention.

Continuons nos tableaux.

Lapin 39.

1904 Mai 25.	Poids 1770	a reçu	1 c. c. de la toxine VII.
Juin 1 ^{er} .	— 1995	— 3	—
— 8.	— 2200	— 5	— V (0,001).
— 15.	— 2170	— 8	— X (0,01).
— 21.	— 2355	— 10	— IX (0,004).
— 28.	— 2400	— 12	— XI (0,001).

Le lapin a vécu encore 14 jours ; mort d'une cause étrangère.

Lapin 53.

1904 Juin 16.	Poids 1940	a reçu	2 c. c. de la toxine X (0,01).
— 21.	— 2145	— 4	— IX (0,004).
— 28.	— 2245	— 6	— XI (0,001).

Le lapin a vécu encore 22 jours ; mort d'une cause étrangère.

Lapin 54.

1904 Juin 16.	Poids 1970	a reçu	3 c. c. de la toxine X (0,01).
— 21.	— 2060	— 5	— IX (0,004).
— 28.	— 2310	— 7	— XI (0,001).

Le lapin a vécu encore 16 jours.

Les 3 derniers lapins ont supporté sans dommage les doses de 6 c. c., 7 c. c. et 12 c. c. de la toxine XI. Pour les lapins témoins, la dose de 5 c. c. causait déjà la mort (en 2 jours).

Avant de donner les autres tableaux, plus probants, de nos expériences, disons que pour les toxines suivantes, toxines XXIII,

XXIV, XXVI, XXVII, XXVIII, XXIX et XXX, la dose mortelle pour les lapins témoins (dose introduite par la bouche) était de 3 c. c. à 5 c. c.

Lapin 65.

1904 Juillet	2.	Poids 1615 a reçu	2 c. c. de la toxine	XI (0,004).
—	13.	— 1900 —	5 —	— X (0,01).
—	23.	— 1890 —	8 —	— XII (0,01).
—	30.	— 2210 —	7 —	— XIII (0,004).
Août	11.	— 2440 —	7 —	— XVI (0,004).
—	22.	— 2810 —	9 —	—
Septembre 1 ^{er} .	—	— 2670 —	10 —	— XIX (0,004).
—	12.	— 2555 —	12 —	—
—	21.	— 2555 —	15 —	—
Octobre	4.	— 2735 —	27 —	— XXII (0,01).
—	14.	— 2750 —	15 —	— XXIII (0,004).
—	28.	— 2770 —	17 —	— XXIV (0,004).
Novembre	9.	— 2550 —	20 —	— XXVI (0,004).

Le lapin a vécu encore 12 jours.

Lapin 68.

1904 Juillet	8.	Poids 2150 a reçu	2 c. c. de la toxine	
—	20.	— — —	4 —	— XIII (0,004).
—	30.	— 2300 —	6 —	—
Août	11.	— 2340 —	6 —	— XVI (0,001).
—	22.	— 2385 —	8 —	—
Septembre 1 ^{er} .	—	— 2270 —	10 —	— XIX (0,004).
—	2.	— 2270 —	12 —	—
—	12.	— 2220 —	15 —	—
Octobre	4.	— 2350 —	27 —	— XXII (0,01).
—	14.	— 2380 —	15 —	— XXIII (0,004).
—	28.	— 2660 —	15 —	— XXIV (0,004).
Novembre	9.	— 2610 —	17 —	— XXVI (0,004).
—	19.	— 2425 —	20 —	— XXVII (0,001).
—	30.	— 2570 —	5 —	— XXVIII (0,004).
Décembre 1 ^{er} .	—	— 2300 —	17 —	—
—	16.	— saignée à blanc.		

Lapin 80.

1904 Juillet	13.	Poids 1900 a reçu	3 c. c. de la toxine	X 0,01).
—	23.	— 1550 —	6 —	— XII (0,01).
Août	2.	— 1850 —	6 —	— XIII (0,004).
—	12.	— 2020 —	4 —	— XVI (0,001).
—	23.	— 2270 —	6 —	—
Septembre 2.	—	— 2280 —	8 —	—
—	12.	— 2070 —	10 —	—
—	21.	— 1850 —	15 —	— XX (0,04).
Octobre	4.	— 2220 —	18 —	— XXII (0,01).
—	14.	— 2270 —	10 —	— XXIII (0,004).
—	28.	— 2600 —	5 —	— XXIV (0,004).
Novembre	9.	— 2520 —	10 —	— XXVI (0,004).

Novembre 19.	Poids 2320 a reçu 42 c. c. de la toxine	XXVII (0,001).
— 30.	— 2430 — 3 —	— XXVIII (0,001).
Décembre 1 ^{er} .	— 2150 — 12 —	—
— 16.	— 2510 — 15 —	— XXIX (0,001).
— 30.	— 2490 — 17 —	—
1905 Janvier 13.	— 2560 — 20 —	— XXX (0,001).

Lapin 87.

1904 Septembre 2.	Poids 2745 a reçu 10 c. c. de la toxine	XV (0,01).
— 12.	— 2690 — 5 —	— XVI (0,004).
— 21.	— 2600 — 15 —	— XX (0,01).
Octobre 4.	— 2900 — 26 —	— XV (0,01).
— 14.	— 2720 — 7 —	— XXIII (0,001).
— 28.	— 2720 — 12 —	— XXIV (0,004).
Novembre 9.	— 2880 — 12 —	— XXVI (0,004).
— 19.	— 2940 — 14 —	— XXVII (0,004).
— 30.	— 3140 — 5 —	— XXVIII (0,004).
Décembre 4.	— 3000 — 10 —	—
— 16.	— 2870 — 12 —	— XXIX (0,001).
— 30.	— 2900 — 14 —	—
1905 Janvier 13.	— 2970 — 18 —	— XX (0,001).

Ainsi nous voyons que, après la 2^e ou la 3^e ingestion, les lapins supportent déjà la dose mortelle; l'administration plus prolongée de la toxine permet aux lapins d'ingérer sans danger plusieurs doses mortelles. Toutefois, pour obtenir ce dernier résultat, un traitement assez prolongé est nécessaire.

Ne disposant plus à la fin de nos expériences que de deux lapins (n^o 80 et 87), qui avaient reçu de la toxine pendant plusieurs mois et supportaient, sans suite funeste, environ 5 ou 6 doses mortelles *per os*, nous avons voulu voir (craignant de les perdre d'une cause étrangère) comment ils se comporteraient vis-à-vis des injections sous-cutanées. Les essais préliminaires pour déterminer la dose mortelle pour les lapins, en injections sous-cutanées, avaient donné les résultats suivants :

1905 Janvier 20. 1 ^{er} lapin pesant 1860 ^{gr}	a reçu 0 ^{cc} ,01	+	I/22 (p. 1660 ^{gr}).	
— 2 ^o — —	1740 ^{gr}	— 0 ^{cc} ,001	+	I/24 (p. 1430 ^{gr}).
— 3 ^o — —	4600 ^{gr}	— 0 ^{cc} ,0001	+	I/28 (p. 4435 ^{gr}).

Ensuite nous avons injecté à nos lapins, 14 jours après la dernière ingestion, de la toxine sous la peau : à l'un (n^o 80) 0,001 c. c. et à l'autre (n^o 87) 0,002 c. c., en prenant en même temps 4 lapins-témoins, dont 2 ont reçu sous la peau 0,001 c. c., et les 2 autres 0,002 c. c.

Le résultat fut le suivant :

Lapins témoins.

1905 Janvier 27.	N° 1	Poids 2000 ^{gr}	à reçu 0cc,001	† I/30	(p. 1820 ^{gr}).
	— 2 —	2200 ^{gr}	—	—	† II/2 (p. 1810 ^{gr}).
	— 3 —	2220 ^{gr}	—	0cc,002	† II/1 (p. 1750 ^{gr}).
	— 4 —	2400 ^{gr}	—	—	† II/2 (p. 1700 ^{gr}).

Lapins traités.

1905 Janvier 27.	N° 87.	Poids 3100 ^{gr}	à reçu 0cc,002	† II/4	(p. 2670 ^{gr}).
	— 80 —	2675	—	0cc,001.	

Comme nous le voyons, tous les lapins-témoins étaient déjà morts en 6 jours ; quant à nos 2 lapins, l'un, qui avait reçu 0,002 c. c., a survécu à ses témoins seulement 2 jours ; l'autre, qui avait reçu 0,001 c. c., est encore vivant aujourd'hui, c'est-à-dire plus d'un mois et demi après l'expérience.

Nous pouvons donc conclure que si ces lapins ont acquis un certain degré d'immunité active, cette immunité est toutefois assez faible.

Les expériences concernant les propriétés préventives du sérum pris sur d'autres lapins (n°s 21 et 68), lesquels n'ont du reste pas été traités si longtemps, ont donné des résultats négatifs.

Ce dernier fait, l'absence de la propriété préventive du sérum en présence de l'immunité active nettement marquée, quoique faible, ne doit pas nous surprendre. Des faits analogues, même plus accentués, ont été observés, dans différents cas, par d'autres travailleurs. On les trouvera énumérés dans l'ouvrage devenu classique de M. Metchnikoff sur *L'Immunité dans les maladies infectieuses*.

BIBLIOGRAPHIE

BRIEGER und KEMPNER. — *Deutsch. med. Wochenschr.* 1897, n° 33.
 CARRIÈRE. — *Annales de l'Inst. Pasteur*, 1899, p. 435.
 CHARRIN et CASSIN. — *Arch. de physiol. norm. et pathol.* 1896, p. 595.
 CHARRIN et LEFÈVRE. — *Compt. rend. Soc. Biolog.*, 1897, p. 830,
 CHARRIN et LEFÈVRE. — *Compt. rend. Soc. Biolog.*, 1898, p. 878.
 CHARRIN. — *Archives de physiol. norm. et pathol.* 1898, p. 67.
 CHARRIN et LEVADITI. — *Compt. rend. Soc. Biolog.* 1899, p. 245.
 EHRLICH. — *Deutsch. med. Wochenschr.* 1891, pp. 976 et 1248.
 VAN ERMENGEN. — *Zeitsch. für hygiene*, 1897. Bd. 26.

VAN ERMENGEM. — *Handbuch der pathog. Mikroorganismen, de Kolle und Wassermann.*

FORSSMANN. — *Centralbl. für Bakter.*, t. XXIX, 1901, p. 541.

FORSSMAN et LUNDSTROM. — *Annales de l'Inst. Pasteur*, 1902, p. 294.

GIBIER. — *Compt. rend. de l'Acad. des Sciences*, 1896, p. 422.

KEMPNER. — *Zeitsch. f. Hygiene*, 1897, Bd. 26.

KEMPNER und POLLACK. — *Deutsch. med. Wochensch.* 1897, n° 32.

KEMPNER und SCHEPILEWSKY. — *Zeitsch. für Hygiene*, 1898, Bd. 27.

MARINESCO. — *Compt. rend. Soc. Biolog.* 1896, n. 31.

MADSEN. — *Académie royale des Sciences et des Lettres de Danemark*, 1903, n. 4.

METCHNIKOFF. — *L'immunité dans les maladies infectieuses*. Paris.

NENCKI. — *Sieber und Schumow-Simanowski. Centralbl. f. Bakt.*, t. XXIII (orig.), 1898, pp. 840 et 888.

RANSOM. — *Deutsch. med. Wochensch.* 1898, p. 417.

RÖMER. — *Centralbl. f. Bakt.*, t. XXVII, 1900, p. 857.

SCHNEIDEMÜHL. — *Centralbl. f. Bakt.*, t. XXIV, 1898, pp. 577 et 619.

COLORATION DES PROTOZOAires

(Remarques sur la publication de M. F. Marino, portant le même titre.)

(Voir *Annales Institut Pasteur*, 1904, p. 761.)

PAR G. GIEMSA

(Travail de l'Institut des maladies tropicales de Hambourg)

Dans le numéro de décembre 1904 des *Annales* le docteur Marino a publié, sous le titre précédent, un travail qui m'oblige à faire des remarques sur les points suivants, à savoir :

1^o Sur la méthode suivie par l'auteur pour arriver à obtenir une coloration caractéristique de la chromatine des noyaux à l'aide de la méthode de Romanowsky ;

2^o Sur le mode de coloration qu'il recommande dans ce but.

Pour ce qui regarde le premier point, Marino ne cite, parmi les nombreux travaux qui ont été publiés sur ce sujet que ceux de Romanowsky et de Ziemann. Il dit : « Romanowski plus tard, a démontré la coloration spécifique de la chromatine du noyau en se servant d'un mélange de bleu de méthylène et d'éosine. »

L'auteur pense — sans preuve aucune — que ce mélange produit, dans le tube à essai, une troisième substance colorante neutre qui serait capable d'agir seulement à l'état *naissant* et qui aurait une très grande affinité pour la chromatine des noyaux.

Ziemann, qui a modifié la méthode de Romanowsky, croit que la couleur neutre, due à un mélange de bleu et d'éosine, est soluble soit dans un excès de bleu, soit dans un excès d'éosine et qu'ainsi elle perd tout pouvoir colorant. Il est nécessaire donc, d'après Ziemann, d'obtenir par tâtonnement un certain mélange de deux matières colorantes, dans lequel cette couleur neutre ne se dissout pas.

Quant aux autres auteurs, Marino les mentionne par ces mots : « D'autres encore sont persuadés que le principe colorant actif de la chromatine existe dans le bleu de méthylène. Comme l'on voit, les idées de Romanowsky, Ziemann et autres sont assez

vagues pour ne pas avoir la prétention d'expliquer sérieusement le mécanisme intime suivant lequel s'opère la coloration spécifique de la chromatine. »

Il ressort donc de ces mots, que Marino ne tient pas compte d'une suite de travaux publiés dans ces dernières années par des auteurs qui ont travaillé avec succès sur ce terrain, car quelques-uns d'entre eux n'ont pas seulement reconnu les conditions sous lesquelles s'opère la coloration de la chromatine, mais ont encore créé des méthodes qui reposent sur des bases scientifiques et qui sont dignes de votre attention.

En premier lieu, Nocht a le grand mérite d'avoir, le premier, sûrement démontré (*Centralbl. für Bacteriologie*. XXIV, p. 839, u. XXV, p. 764) que pour obtenir une bonne coloration de la chromatine, il faut l'existence d'un certain agent, qui est un produit de décomposition du bleu de méthylène. La nature chimique de ce produit n'était pas encore clairement définie. Nocht le nommait « rouge provenant du bleu de méthylène ».

Depuis, Michaelis (*Centralbl. f. B.*, XXIX, p. 763) et moi (*Centralbl. f. B.*, XXXII, p. 307; XXXVII, p. 308) avons pu montrer, par des expériences probantes, que le produit de décomposition observé par Nocht est identique à l'azur de méthylène, préparé pour la première fois par Berthsen en 1885, et décrit dans les *Liebigs Annalen der Chemie*, CCXXX, p. 73. Ensuite j'ai réussi, par un procédé plus rationnel, à obtenir un azur très pur de méthylène et j'ai indiqué deux méthodes, pour la coloration de la chromatine, dont la dernière surtout (*Centralbl. f. B.* XXXVII, p. 308), si j'ose ainsi m'exprimer, ne laisse rien à désirer sous le rapport de la simplicité et de la précision.

Je ferai remarquer, au sujet des données de Marino sur sa méthode de coloration, que je me vis obligé, par suite de nombreuses et minutieuses expériences — (voir mes publications,) — à me prononcer contre l'emploi qu'il recommande d'une solution du sel double en question dans le méthylalcool.

Et j'ai donné entre autres comme motifs :

1^o Le peu de solubilité de ces corps colorants dans le méthylalcool;

2^o La conservation très courte de cette solution, — ce que Marino a aussi avoué;

3^o Les précipités souvent inévitables par cette méthode et toujours très désagréables.

Je disais autrefois : « Avec la méthode de Leishman, qui consiste en ce qu'on verse une dissolution du principe colorant dans le méthylalcool sur la préparation du sang, pour la fixer simultanément, il arrive aussi que le méthylalcool, qui est aussi léger que volatil, coule de la lame avant de s'être mélangé avec l'eau. Le peu qui reste sèche alors très vite et laisse un dépôt colorant et fâcheux pour la réussite de la coloration. Ce dépôt ne peut être enlevé sans détériorer la préparation. »

Ce qui vient d'être dit se rapporte naturellement aussi bien à la méthode de Marino, qui prescrit de fixer de la même façon, et gagne encore en importance, si l'on considère que les pays chauds sont le champ principal où on a besoin d'une bonne méthode de coloration pour les protozoaires, et que par suite de la haute température qui y règne, l'évaporation se produit encore beaucoup plus vite.

Aussi, soit dit en passant, la coloration des préparations est limitée par suite de cette évaporation rapide du méthylalcool et des précipités qui en résultent.

Mais la méthode a encore maints défauts, par exemple :

4^o La nécessité d'une deuxième solution colorante, d'une solution d'éosine, qui se décompose facilement, comme je l'ai également fait remarquer dans mon dernier travail;

5^o La combinaison chimique irrationnelle des colorants.

Le docteur Marino chauffe un mélange de bleu d'azur¹ et de bleu de méthylène avec une solution de carbonate de soude (0gr,50 0/0) à 37° et au dessus, pour précipiter ensuite le produit par l'éosine.

Le résultat chimique est que la base d'azur, chauffée avec le carbonate de soude, ne subit pas de changement, tandis qu'avec le bleu de méthylène il se forme une grande quantité de violet

1. Je suppose que, par azur, Marino entend le pur azur de méthylène décrit par Berthsen.

de méthylène, augmentant avec le degré de température, conjointement avec une quantité de diméthylamine.

Le violet de méthylène, qui donne également un dépôt en combinaison avec l'éosine, nuit beaucoup à la coloration, comme je l'ai montré et publié, surtout lorsqu'on emploie la couleur en dissolution dans le méthylalcool, comme c'est ici le cas. Si l'auteur avait précipité avec l'éosine un bleu d'azur pur et du bleu de méthylène en solution à froid, sans ajouter de carbonate de soude, il aurait certainement obtenu de meilleurs résultats.

De même, je ne trouve pas mieux motivé le traitement ultérieur par l'éosine, des préparations préalablement teintes dans la solution des colorants dans le méthylalcool. Car les sels colorants neutres sont solubles dans un excès de colorant acide (éosine) et tout excès de cette couleur doit atténuer la coloration de la chromatine. De fait, on peut facilement se convaincre, par une expérience, que le traitement ultérieur par l'eau distillée, recommandé par Leishman, donne des résultats tout aussi bons, sinon meilleurs.

Au mois d'octobre de l'année précédente, j'étais à même de pouvoir recommander une nouvelle méthode pour la coloration de la chromatine, exempte de tous les défauts ci-dessus mentionnés. Dans cette méthode je me sers de la solution colorante suivante¹:

Azur II ²	Eosine	3 grammes.
Azur II		0gr,8
Glycérine		250 grammes (Merck, chimiquement pure).
Méthylalcool		250 — (Kahlbaum I).

Cette solution se distingue de celle de Marino, de Leishman et d'autres encore:

1^o Par l'emploi de glycérine, qui permet d'élever considérablement la teneur en couleur de la solution;

2^o Par l'emploi de sels colorants purs, reconnus comme colorants actifs;

1. On peut facilement préparer soi-même la solution. Les ingrédients nécessaires ou la solution toute prête sont livrés par la maison Dr Grübler et C^{ie}, Leipzig.

2. Azur II: Azur de méthylène et bleu de méthylène à parties égales.

3^o Par un excès déterminé, reconnu avantageux, des colorants basiques ;

4^o Par sa conservation remarquable.

Lorsqu'on veut procéder à la coloration, on verse sur un nombre quelconque de préparations fixées à l'alcool un mélange, *fraîchement* préparé, d'eau distillée et de cette solution (pour 1 c. c. d'eau, 1 goutte de la solution), et on laisse ainsi les préparations sans plus s'en occuper pendant 15-30 minutes ; après quoi on les lave sous un fort jet d'eau, on les séche à l'air et monte au baume. On peut obtenir de très belles colorations, lorsqu'on teint fortement les préparations, en les laissant long-temps dans le mélange colorant, et qu'on les remet encore une fois dans l'eau distillée pendant 1 ou 2 minutes, après les avoir lavées et séchées à l'air. Mais si l'on veut obtenir une prompte coloration, pour servir au diagnostic, plutôt que de chercher à produire des colorations nettes et distinctes, on peut fixer dans le méthylalcool (pendant 2-3 minutes) ou dans le formalinalcool à 10 0/0 (pendant 10 secondes), au lieu de le faire dans l'éthylalcool. Dans ce cas, la fixation et la coloration réclament ensemble au plus 10 à 15 minutes.

Par suite de la présence de la glycérine dans le mélange colorant, les préparations ne montrent plus de précipités et se distinguent par une netteté remarquable, ce qui fait que cette méthode est très recommandable, comme en témoignent les rapports de beaucoup d'auteurs, non seulement pour cette raison, mais aussi pour la simplicité de son emploi et la réussite certaine de chaque coloration.

Finalement je veux rappeler que depuis plusieurs années déjà, justement la littérature française nous a fait connaître différentes méthodes pour teindre la chromatine, qui donnent les mêmes résultats, sinon meilleurs, que la méthode de Marino.

Parmi ces méthodes, je cite en première ligne celle de Laveran (*C. rend. Soc. biol.*, vol. LI, 1899, et vol. LII, 1900).

Pour plus de clarté, je me propose de faire paraître sous peu dans les *Folia hæmatologica* un tableau chronologique complet de tout ce que j'ai trouvé jusqu'ici dans la littérature sur la coloration d'après Romanowsky.

AU SUJET DE LA COLORATION DES PROTOZOAires PAR F. MARINO

Réponse à l'article ci-dessus de M. G. GIEMSA.

La rédaction de ces *Annales* ayant eu l'obligeance de me communiquer les critiques que M. Giemsa adresse à l'article que j'ai publié en décembre 1904, j'y répondrai brièvement.

Je n'ai pas eu l'intention de faire un travail, même sommaire, sur les recherches auxquelles a donné lieu la coloration de la chromatine d'après la méthode de Romanowsky, aussi je n'ai point donné d'historique, sans quoi j'aurais cité M. Giemsa et tous les auteurs qui se sont occupés du sujet.

J'ai voulu exposer mes idées sur le mécanisme de cette coloration et surtout appeler l'attention sur un procédé de coloration très rapide, facile à mettre en œuvre, et que je crois capable de rendre des services.

A l'observation que fait M. Giemsa, à savoir que les matières colorantes que j'emploie sont peu solubles dans l'alcool méthylique, je répondrai qu'elles le sont assez pour donner un bain colorant, qui teint bien les protozoaires et les différencie très nettement, si on ajoute la faible solution aqueuse d'éosine que je recommande.

Pour ce qui est de la conservation des solutions, celle de la solution alcoolique est d'au moins deux mois, celle de la solution aqueuse d'éosine est beaucoup plus longue encore, à condition de la tenir à l'abri de la lumière.

M. Giemsa trouve irrationnelle la préparation de notre matière colorante « parce qu'en chauffant le bleu de méthylène avec la solution de carbonate de soude il se produit du violet de méthylène qui nuit beaucoup à la coloration ». Il suffit, pour reconnaître le bien-fondé de notre pratique, de faire agir séparément sur des trypanosomes, par exemple, une solution alcoolique de bleu azur neutralisée ensuite par l'éosine, et une solution de la poudre résultant du traitement du bleu de méthylène par le carbonate de soude et l'éosine, neutralisée aussi par une solution aqueuse très faible d'éosine ; dans les deux cas, la coloration est médiocre. Mélangeons les deux solutions, nous obtenons

une coloration magnifique. C'est la constatation de ce fait qui a déterminé la méthode de préparation de notre matière colorante qui, contenant un excès de couleur basique, teint parfaitement la chromatine.

Le traitement par l'éosine, de préparations préalablement teintes dans la solution des colorants dans l'alcool méthylique, paraît à notre contradicteur tout à fait injustifiée. « Car, dit-il, les sels colorants neutres sont solubles dans un excès de colorant acide (éosine) et tout excès de cette couleur doit atténuer la coloration de la chromatine. » Notre solution d'éosine étant très faible 1/20000, n'a pas les inconvénients que lui attribue M. Giemsa. En faisant varier judicieusement la quantité de la solution d'éosine par rapport à celle des autres couleurs dissoutes dans l'alcool méthylique, on règle facilement le ton de la coloration. L'emploi de l'eau distillée serait préférable, d'après M. Giemsa, à celui de l'éosine; de nombreux essais nous ont montré qu'avec l'éosine les résultats sont meilleurs et plus rapidement obtenus. Si on n'a pas d'éosine, on peut se servir de la solution physiologique, de l'eau ordinaire, mais non d'eau distillée qui donne les plus mauvaises préparations.

Une des principales critiques que M. Giemsa fait à notre méthode, c'est qu'avec elle les précipités sont inévitables à cause de la volatilité de l'alcool méthylique. « Le peu qui reste laisse un dépôt colorant extrêmement fâcheux pour la réussite de la coloration », ce défaut serait particulièrement marqué dans les pays chauds où la méthode doit être surtout utilisée.

La volatilité de l'alcool méthylique n'est pas gênante, même dans les pays chauds; il suffit en effet de mettre davantage de matière colorante, de façon que la lame soit toujours couverte. Comme la coloration ne demande que trois à cinq minutes, il n'y a vraiment ni perte de temps ni perte de réactif.

En résumé, les critiques que m'adresse M. Giemsa sont surtout d'ordre théorique, je crois qu'il ne les aurait pas faites s'il avait mis mon procédé en œuvre. Beaucoup de travailleurs l'emploient et s'en trouvent bien, et ce que je revendique surtout pour lui c'est la rapidité avec laquelle il permet d'obtenir des préparations bien colorées et sans précipité.

Le gérant : G. MASSON.

Seeaux. — Imprimerie Charaire.





